

**ТОШКЕНТ ТИББИЁТ АКАДЕМИЯСИ ХУЗУРИДАГИ
ИЛМий ДАРАЖАЛАР БЕРУВЧИ DSc.27.06.2017.Tib.30.02.
РАҚАМЛИ ИЛМий КЕНГАШ**

**ГЕМАТОЛОГИЯ ВА ҚОН ҚУЙИШ ИЛМий ТЕКШИРИШ
ИНСТИТУТИ**

МАТКАРИМОВА ДИЛФУЗА САБУРОВНА

**БАЪЗИ ГЕМОМРАГИК ДИАТЕЗЛАРНИНГ КЛИНИК-БИОКИМЁВИЙ
ВА МОЛЕКУЛЯР-ГЕНЕТИК ХУСУСИЯТЛАРИ**

14.00.29 – Гематология ва трансфузиология

**ТИББИЁТ ФАНЛАРИ ДОКТОРИ (DSc) ДИССЕРТАЦИЯСИ
АВТОРЕФЕРАТИ**

ТОШКЕНТ–2019

Тиббиёт фанлари доктори (DSc) диссертацияси мавзуси Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамаси ҳузуридаги Олий аттестация комиссиясида B2017.3.DSc/Tib220 рақам билан рўйхатга олинган.

Диссертация Гематология ва қон қуйиш илмий текшириш институтида бажарилган.

Диссертация автореферати уч тилда (ўзбек, рус, инглиз (резюме)) Илмий кенгаш веб-саҳифасида (www.tma.uz) ва «ZiyoNet» ахборот-таълим порталида (www.ziynet.uz) жойлаштирилган.

Илмий маслаҳатчи:

Каримов Хамид Якубович
тиббиёт фанлари доктори, профессор

Расмий оппонентлар:

Бахрамов Саиджалол Махмудович
тиббиёт фанлари доктори, профессор

Бабаджанова Шоира Агзамовна
тиббиёт фанлари доктори, профессор

Гильдиева Маргарита Сабировна
биология фанлари доктори

Етакчи ташкилот:

Россия Федерацияси соғлиқни сақлаш вазирлигининг Федерал давлат бюджетли олий таълим муассасаси (ФДБОТМ) «Академик И.П. Павлов номидаги биринчи Санкт-Петербург давлат тиббиёт университети»

Диссертация ҳимояси Тошкент тиббиёт академияси ҳузуридаги DSc.27.06.2017.Tib.30.02. рақамли илмий кенгашнинг 2019 йил «___» _____ соат _____ даги мажлисида бўлиб ўтади (Манзил: 100109 Тошкент ш., Олмазор тумани, Фаробий кўчаси 2-уй. Тел./факс: (+998 71) 150-78-25, e-mail: tta2005@mail.ru).

Диссертация билан Тошкент тиббиёт академияси Ахборот-ресурс марказида танишиш мумкин (№___ рақам билан рўйхатга олинган) (Манзил: 100109, Олмазор тумани, Тошкент шаҳри, Фаробий кўчаси, 2-уй. Тел./факс: +99871 150-78-25).

Диссертация автореферати 2019 йил «___» _____ куни тарқатилди.

(2019 йил «___» _____ даги _____ рақамли реестр баённомаси)

А. Г. Гадаев

Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш раиси, тиббиёт фанлари доктори, профессор

Д. А. Набиева

Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш илмий котиби, тиббиёт фанлари доктори

А. Л. Аляви

Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш қошидаги илмий семинар раиси, тиббиёт фанлари доктори, профессор, академик

КИРИШ (докторлик (DSc) диссертацияси аннотацияси)

Диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурати. Дунё аҳолиси орасида учрайдиган барча касалликлари ичида геморрагик диатезлар (ГД) кун сайин ортиб бормоқда. Ушбу касалликларнинг тарқалиши «...Европа минтақасидаги болалар орасида бир йилда 100000 нафар аҳолига 3-27, Шимолий Америка ва Осиё мамлакатларида - 21,1, Тайванда - 12,9, Буюк Британияда - 20,4, ҳамда Россияда - 13,5-25 ҳолатни ташкил қилади...»¹. ГД аҳолининг турли популяцияларида кенг тарқалганлиги, турли-туманлиги ва ўлимга олиб келувчи оғир геморрагик ва тромбогеморрагик асоратларнинг юқори даражада ривожланганлиги, полиморфлиги билан ажралиб туради. ГД патологиялари орасида, бирламчи гемостазнинг орттирилган бузилиши, иммун микротромбоваскулит (ИМТВ) ва иммун тромбоцитопенияга (ИТП) ўзига хос ўринга эга. «...ҳар иккала хасталик бир-бирига жуда ўхшаш клиник кўринишлари, яъни, микроциркулятор турдаги петехиал тери-геморрагик синдроми, шу билан бирга, касалликлар кўпинча болаликдан намоён бўлиб, кейинчалик сурункали ва оғир босқичга ўтади...»². ИМТВ билан хасталанган беморларда яллиғланиш олди цитокин генлари TNF- α (rs1800629), IL-1 β (rs1143627), IL-6 (rs1800795), VEGFA (rs2010963), ангиотензин тизими гени AGTR1 (rs5186) ва END1 (rs5370), ИТП билан хасталанганларда яллиғланиш олди цитокин генлари TNF- α (rs1800629), IL-1 β (rs1143627), IL-6 (rs1800795) аллел ва генотипик вариантлари, касалликларнинг клиник ва биокимёвий кўринишини яққол кечиши билан боғлиқлиги, иммун микротромбоваскулит (TNF- α (rs1800629) ва VEGFA (rs2010963)) ва иммун тромбоцитопения (TNF- α (rs1800629)) билан хасталанган беморларда яллиғланиш олди асосий цитокин генларининг фаоллигини таққосий таҳлилини баҳолаш соҳа ходимлари олдида турган долзарб муаммолардан биридир.

Жаҳонда геморрагик диатезларнинг клиник-биокимёвий ва молекуляр-генетик хусусиятларини баҳолашга йўналтирилган қатор илмий-тадқиқотлар олиб борилмоқда. Бу аҳолининг турли популяцияларида ИМТВ ва ИТПнинг клиник кечишти башоратлаш, шунингдек, оғирлик даражасини аниқловчи клиник предикторлари, биокимёвий хусусиятлари ва уларни клиник кўринишлар билан боғлиқлигини асослашдан иборат. ИМТВ билан хасталанган беморларда яллиғланиш олди цитокин генлари, ангиотензин ва эндотелиал тизими генлари полиморф вариантларининг аллел ва генотипларини тақсимланиш хусусиятларини ҳамда ИТП билан хасталанган беморларда яллиғланиш олди цитокин генларининг полиморф вариантларини хусусиятларини баҳолашни такомиллаштириш, шунингдек клиник-биокимёвий ва генетик кўринишлар орасида сезиларли ўзаро

¹ Mahévas M., Fain O., Ebbo M. et al. The temporary use of thrombopoietin-receptor agonists may induce a prolonged remission in adult chronic immune thrombocytopenia. Results of a French observational study // Br J Haematol 2014; 165: 865-9.

² López-Mejías R., Castañeda S., Genrea F., Remuzgo-Martínez S., Carmona D., Llorca J., Blanco R., Martín J., González-Gay M. A. Genetics of immunoglobulin-A vasculitis (Henoch-Schönlein purpura): An updated review//Autoimmunity Reviews Volume 17, Issue 3, March 2018, Pages 301-315.

муносабатларини баҳолаш тизимини такомиллаштириш алоҳида аҳамият касб этади.

Мамлакатимизда тиббиёт соҳасини жаҳон андозалари талабларига мослаштириш, этиологияси аниқ бўлмаган турли ирсий ва қон тизими касалликларни самарали ташхислаш орқали уларнинг тарқалишини камайтириш муҳим вазифалардан бири ҳисобланади. «...Мамлакатимизда аҳолига кўрсатилаётган тиббий ёрдамнинг самарадорлиги, сифати ва оммабоплигини ошириш, шунингдек, тиббий стандартлаштириш тизимини шакллантириш, ташхис қўйиш ва даволашнинг юқори технологик усулларини жорий қилиш, патронаж хизмати ва диспансеризациянинг самарали моделларини яратиш орқали, соғлом турмуш тарзини қўллаб-қувватлаш ва касалликларни профилактика қилиш...»³ каби вазифалари белгиланган. Ушбу вазифалар ИМТВ ва ИТП касалликларини башоратлаш ва даволашда замонавий технологияларни қўллашни такомиллаштириш орқали касалликларнинг асоратлари ва ўлим кўрсаткичини камайтириш имконини беради.

Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 7 февралдаги ПФ–4947-сон «Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегияси тўғрисида»ги Фармони, 2018 йил 7 декабрдаги «Ўзбекистон Республикаси соғлиқни сақлаш тизимини тубдан такомиллаштириш бўйича комплекс чора-тадбирлари тўғрисида»ги ПФ–5590-сон Фармонлари, 2017 йил 20 июндаги ПҚ–3071-сон «Ўзбекистон Республикаси аҳолисига 2017–2021 йилларда ихтисослаштирилган тиббий ёрдам кўрсатишни янада ривожлантириш чора-тадбирлари тўғрисида», 2017 йил 4 апрелидаги ПҚ–2866 «2017-2021 йилларда Ўзбекистон Республикаси аҳолисига тиббий ёрдам кўрсатишни такомиллаштириш ва тиббий хизматни келгусида ривожлантириш бўйича чора-тадбирлар тўғрисида»ги Қарори ҳамда мазкур фаолиятга тегишли бошқа меъерий-ҳуқуқий ҳужжатларда белгиланган вазифаларни амалга оширишга мазкур диссертация тадқиқоти муайян даражада хизмат қилади.

Тадқиқотнинг республика фан ва технологиялари ривожланишининг устувор йўналишларига мослиги. Мазкур тадқиқот республика фан ва технологиялар ривожланишининг VI. «Тиббиёт ва фармакология» устувор йўналишига мувофиқ бажарилган.

Диссертациянинг мавзуси бўйича хорижий илмий-тадқиқотлар шарҳи⁴. Баъзи геморрагик диатезларнинг клиник-биокимёвий ва молекуляр-генетик хусусиятларини баҳолашга йўналтирилган илмий изланишлар жаҳоннинг етакчи илмий марказлари ва олий таълим муассасалари, жумладан, University of California, University of Texas, University of Virginia, University of Pittsburgh (АҚШ), University of São Paulo (Бразилия), Newcastle

³ Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2018 йил 7 декабрдаги ПФ-5590-сон «Соғлиқни сақлаш тизимини тубдан такомиллаштириш бўйича комплекс чора-тадбирлар тўғрисида»ги Фармони.

⁴ Диссертация мавзуси бўйича хорижий илмий-тадқиқотлар шарҳи: www.goethe-university-frankfurt.de, www.utexas.edu, ubc.ca, www.berkeley.edu, www.uark.edu, www.virginia.edu, www.pitt.edu, www.ncl.ac.uk, www.uio.no/english, www.useoul.edu, www.pkuf.org, www.gematologiya.uz ва бошқа манбалар асосида амалга оширилди.

University (Буюк Британия), Goethe-University, Universitäts klinikum Regensburg (Германия), University of British Columbia (Канада), University of Oslo (Норвегия), Erasmus University; Radboud University (Нидерландия), University of Missouri, Columbia (Колумбия); Seoul National University (Корея), Guangzhou Hoffmann Institute of Immunology, Peking University (Хитой), University of Malaya, (Малайзия); Universitas Indonesia (Индонезия); Гематология ва қон қуйиш илмий текшириш институтида (Ўзбекистон) олиб борилмоқда.

Баъзи геморрагик диатезларнинг клиник-биокимёвий ва молекуляр-генетик хусусиятларини баҳолашнинг юқори самарадорлигига эришиш мақсадида қатор илмий-тадқиқотлар амалга оширилмоқда, жумладан, ташхисланмаган геморрагик диатезлар асоратларидан тромбогеморрагиялар натижасида қон йўқотишнинг асосий сабаб ва патогенетик механизмлари исботланган (Goethe-University, Германия); иммун микротромбоваскулит ва иммун тромбоцитопенияни ташхислашда стандарт ташхислаш усуллари билан биргаликда молекуляр-генетик текширувларидан фойдаланиш зарурлиги исботланган (University of Texas, АҚШ); геморрагик диатезларда қон кетишнинг инструментал ва биокимёвий тадқиқот натижасида сабаблари аниқланмаганда, касалликни ташхислашда фенотипик ва генетик профиллар орқали ташхислаш механизми ва тизими исботланган (Radboud University, Нидерландия); иммун микротромбоваскулит ривожланиши оқибатида эндотелиал дисфункциянинг ривожланиши тартиби асосланган (Universitas Indonesia, Индонезия); шунингдек касалликларнинг асоратлари оқибатида юзага келадиган ўлим даражаси исботланган (Gaziosmanpasa University, Туркия; University of British Columbia, Канада; University of California, АҚШ; Newcastle University, Буюк Британия); геморрагик диатезларнинг клиник-биокимёвий ва молекуляр-генетик хусусиятларини баҳолашнинг самарадорлиги исботланган (Гематология ва қон қуйиш илмий тадқиқот институти, Ўзбекистон).

Дунёда баъзи геморрагик диатезларнинг клиник-биокимёвий ва молекуляр-генетик хусусиятларини баҳолашни такомиллаштириш бўйича қатор, жумладан, қуйидаги устувор йўналишларда тадқиқотлар олиб борилмоқда: иммун микротромбоваскулит ва иммун тромбоцитопениянинг клиник кечиш хусусиятларини асослаш; шунингдек касалликларда яллиғланиш олди цитокин генларининг полиморф вариантларини хусусиятларини асослаш; иммун микротромбоваскулит ва иммун тромбоцитопениянинг ривожланиши мавжуд беморларда клиник-биокимёвий ва генотипик кўринишларнинг мумкин бўлган ўзаро боғлиқлигини асослашни такомиллаштириш.

Муаммонинг ўрганилганлик даражаси. Дунёда ИМТВ ва ИТП шаклланиш механизмларини ирсий мойиллигини ўрганиш бўйича бир қатор илмий тадқиқотлар олиб борилмоқда (Garbe E., Andersohn F., Bronder E., et al. Drug-induced immune thrombocytopaenia: results from the Berlin Case-Control Surveillance Study, 2012; Juwon Kim. IL-1 β -31 and IL-1Ra polymorphisms associated with in-creased host susceptibility to immune thrombocytopenia, 2017;

Mahévas M., Fain O., Ebbo M., et al. The temporary use of thrombo-poietin-receptor agonists may induce a prolonged remission in adult chronic immune thrombocytopenia, 2014). Маълумки, ушбу кўп омилли касалликларнинг ривожланишида организмнинг индивидуал хусусиятлари ва шаклланиши асосий ўрин эгаллаши билан бирга, экзо- ва эндоген омилларининг таъсири, уларнинг таъсир интенсивлиги касалликнинг шаклланиш ҳавфини оширишда муҳим аҳамият касб этади (Marieke H. Heineke, Aranka V. Ballering, Agnès Jamin et al., 2017; Morgan D. S., Abdel-Raouf R., Afifi A. et al., 2017). Охирги йиллардаги тадқиқот натижалари ИМТВ ва ИТП шаклланишида молекуляр-генетик полиморфизмларининг муҳим аҳамияти борлигини кўрсатди (И.И. Зотова, 2018; Raquel López-Mejías et al., 2018).

ИМТВ ва ИТП ривожланиш механизмида генетик полиморфизмларининг ўрнини аниқлаш, замонавий гематологиянинг перспектив йўналишларидан бири бўлиб келмоқда. Маълумки, ушбу касалликлар патогенезида иммун жавоб ва ангиотензин тизими регулятор генлари аҳамиятли ўрин тутаяди, шунга асосланиб, бугунги кунда ИМТВ ва ИТП касалликларида иммун жавоб регуляция жараёнларида бевосита қатнашувчи турли хил цитокин генларининг жалб қилиниши тўғрисида ишончли маълумотлар мавжуд. Лекин, ИМТВ ва ИТП шаклланиш механизмини ўрганиш бўйича тадқиқотлар натижалари асосидаги мавжуд наشرлар бирон бир тўхтама келишга имкон бермайди, шунинг учун ушбу йўналишда тадқиқот олиб бориш долзарб ҳисобланади.

Бизнинг Республикамизда инновацион стратегияларни кенгайтириш ва юқори технологияларни тадбиқ қилиш, тизимли тиббиёт асосини ишлаб чиқиш, ИМТВ ва ИТП шаклланиш механизмини, ташхисотнинг самарали усулларини ишлаб чиқиш, ҳамда хасталикнинг ривожланиш ва оғир кечишини ривожланиш ҳавфини олдиндан баҳолаш имконини беради.

Диссертация мавзусининг диссертация бажарилаётган илмий-тадқиқот муассасасининг илмий-тадқиқот ишлари билан мослиги. Гематология ва қон қуйиш илмий текшириш институтининг илмий тадқиқот ишлари режасига мувофиқ МПП-2 «Инсон организми генетик полиморфизм ва бошқа детерминант патологик ҳолатни, шунингдек атроф муҳит омилларини ноҳўя таъсири аниқлаш асосида, касаллик профилактикаси ва дифференциал терапия усулларини ва даволашнинг янги турларини ишлаб чиқиш» (2015-2018 йй) асосида бажарилган.

Тадқиқот мақсади иммун микротромбоваскулит ва иммун тромбоцитопениянинг клиник-биокимёвий ва молекуляр-генетик хусусиятларини ўрганиш асосида, касалликларнинг ривожланиши ва клиник кечишини баҳоратлаш усулларини такомиллаштиришдан иборат.

Тадқиқот вазифалари:

иммун микротромбоваскулит ва иммун тромбоцитопения билан хасталанган беморларда клиник ва биокимёвий кўрсаткичларни баҳолаш асосида, касалликларнинг оғирлик даражасини белгиловчи предикторларини аниқлаш;

иммун микротромбоваскулит билан хасталанган беморларда яллиғланиш

олди цитокин TNF- α (rs1800629), IL-1 β (rs1143627), IL-6 (rs1800795), VEGFA (rs2010963), ангиотензин тизими AGTR1 (rs5186) ва END1 (rs5370) генлари полиморф вариантларининг аллел ва генотипларини тақсимланиш хусусиятларини баҳолаш;

иммун тромбоцитопения билан хасталанган беморларда яллиғланиш олди цитокин TNF- α (rs1800629), IL-1 β (rs1143627), IL-6 (rs1800795) генлари полиморф вариантларининг аллел ва генотипларини тақсимланиш хусусиятларини баҳолаш;

ушбу номзод-генларнинг полиморф маркерлари билан иммун микротромбоваскулит ва иммун тромбоцитопения ривожланиш хавфи боғлиқлиги мавжудлигини баҳолаш;

иммун микротромбоваскулит ва иммун тромбоцитопения клиник кечишининг оғирлик даражасини ўрганилаётган ген полиморфизмлари билан боғлиқлигини аниқлаш;

клиник, биокимёвий ва генотипик кўринишларининг таҳлили асосида муҳим хавф омилларини аниқлаш, шунингдек иммун микротромбоваскулит ва иммун тромбоцитопениянинг ривожланиши ва кечишини башорат қилиш мезонларини такомиллаштириш.

Тадқиқот объекти сифатида 2012-2018 йиллар давомида Гематология ва қон қуйиш илмий текшириш институтида даволанган ва назорат остига олинган 240 нафар беморлар олинган бўлиб, улардан ИМТВ (n=105) ва ИТП (n=135) ташхисли, қариндош бўлмаган беморлар гуруҳи ташкил қилган. Назорат гуруҳига 81 нафар шартли соғлом қариндош бўлмаган шахслар олинган.

Тадқиқотнинг предмети сифатида бемор ва шартли соғлом инсонларнинг клиник текширув материаллари, периферик қонда гемограмма кўрсаткичлари бўйича тромбоцитлар миқдори, веноз қонда: гемостаз тизими кўрсаткичлари (қоннинг ивиш вақти (ҚИВ), қоннинг кетиш вақти (ҚКВ), тромбоцитлар агрегацияси (ТА), қисман фаоллашган тромбопластин вақти (ҚФТВ), протробин индекси (ПТИ), тромбин вақти (ТВ), фибриноген, қон лахта ретракцияси, эрувчан фибрин-мономер комплекслар (ЭФМК), антитромбин III (АТ-III), Виллебранд омили (ВО)); шунингдек циркуляцияда юрувчи иммун комплекслар (ЦЮИК); ПЗРда TNF- α (rs1800629), IL-1 β (rs1143627), IL-6 (rs1800795), VEGFA (rs2010963), AGTR1 (rs5186) ва END1 (rs5370) генлар полиморф вариантларининг детекцияси материаллари олинган.

Тадқиқот усуллари. Тадқиқотда клиник, биокимёвий, молекуляр-генетик ва статистик текширув усулларидан фойдаланилган.

Тадқиқотнинг илмий янгилиги қуйидагилардан иборат:

иммун микротромбоваскулитда (абдоминал ва нефротик синдромларнинг оғир кўриниши, ошқозон-ичак трактидан қон кетиши, касалликнинг йилига 2 мартадан кўпроқ такрорланиши), шунингдек иммун тромбоцитопенияда (оғир қон кетишлар, касалликнинг йилига 2 мартадан кўпроқ такрорланиши) касалликларнинг оғир кечиш предикторлари аниқланган, касалликларнинг клиник ремиссияси даврида кузатиладиган

гемостаз тизимидаги ўзгаришлар ва иммун комплекслар миқдорининг ошиши жараённинг такрорланиши ва сурункали турига ўтиш предикторлари сифатида кўриш мумкинлиги асосланган;

молекуляр-генетик таъхислашда иммун микротромбоваскулит билан хасталанган беморларда TNF- α (rs1800629), IL-1 β (rs1143627), IL-6 (rs1800795), VEGFA (rs2010963), AGTR1 (rs5186), END1 (rs5370) ва иммун тромбоцитопения билан касалланган беморларда эса TNF-a (rs1800629), IL-1 β (rs1143627), IL-6 (rs1800795) генлар полиморф локусларининг аллел ва генотиплар тақсимланиши хусусиятлари исботланган;

иммун микротромбоваскулитнинг ривожланишида TNF-a (rs1800629) ва VEGFA (rs2010963) генларнинг, шунингдек иммун тромбоцитопения шаклланишида TNF-a (rs1800629) генининг генотипик вариантларини патогенетик роли белгиланган, ҳамда касалликнинг предиктив таъхисотидаги аҳамияти асосланган;

иммун микротромбоваскулит билан хасталанган беморларда касалликнинг оғирлигига боғлиқ ҳолда VEGFA (rs2010963) генининг мутаносиб G/G генотипи учрашида сезиларли фарқлари, ҳамда генетик маркер касалликнинг оғир даражада кечишини ривожланишининг олдиндан башорат қилишдаги аҳамияти исботланган;

клиник-биокимёвий ва генотипик маълумотлар таҳлили асосида, иммун микротромбоваскулит ва иммун тромбоцитопениянинг ривожланиш ҳавфи ва клиник кечишини башоратлаш мезонлари такомиллаштирилган.

Тадқиқотнинг амалий натижалари қуйидагилардан иборат:

стандарт текширув усуллари билан бир қаторда таъхислаш тадбирлар мажмуасига иммун микротромбоваскулитни олдиндан аниқлаш учун TNF-a (rs1800629) ва VEGFA (rs2010963) генларнинг, шунингдек иммун тромбоцитопения учун TNF-a (rs1800629) генини полиморф вариантларини молекуляр-генетик тадқиқи тақлиф этилган;

иммун микротромбоваскулитни оғир кечиши генетик маркери сифатида VEGFA (rs2010963) генининг полиморфизмини қўллаш мақсадга мувофиқлиги исботланган;

иммун микротромбоваскулит ва иммун тромбоцитопениянинг ривожланиш ҳавфи, кечиш характерини башорат қилиш мезонлари такомиллаштирилган, бу эса касалликларнинг оғир кечиши билан ҳавфи паст ва юқори бўлган беморларнинг гуруҳларини аниқлашга имкон берган.

Тадқиқот натижаларининг ишончлилиги ишда қўлланилган назарий ёндашув ва усуллар, олиб борилган тадқиқотларнинг услубий жиҳатдан тўғрилиги, етарли даражада материал танланганлиги, беморлар сонининг етарлилиги, қўлланилган усулларнинг замонавийлиги, уларнинг бири иккинчисини тўлдирадиган клиник, биокимёвий, молекуляр-генетик усуллар асосида ИМТВ ва ИТПнинг клиник-биокимёвий ва молекуляр-генетик хусусиятлари статистик усуллар ёрдамида ишлов берилганлиги, халқаро ҳамда маҳаллий тажрибалар билан таққослангани, ҳулоса, олинган натижаларнинг ваколатли тузилмалар томонидан тасдиқлаганлиги билан асосланган.

Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти. Тадқиқотнинг назарий аҳамияти ИМТВ ва ИТП билан хасталанган беморларда касалликларнинг клиник кечишини ва биокимёвий бузилишларининг хусусиятларини, ИМТВда томир-тромбоцитар гемостазнинг фаоллашуви ва ИТПда эса унинг фаоллашувини пасайиши, яъни қон ивишидаги бузилишлар, ИМТВ ва ИТП ривожланишида, ҳамда кечишида молекуляр-генетик омилларни ўрнини баҳолаш, ИМТВ билан хасталанган беморларда яллиғланиш олди цитокин генлари TNF- α (rs1800629), IL-1 β (rs1143627), IL-6 (rs1800795), VEGFA (rs2010963), ангиотензин тизими гени AGTR1 (rs5186) ва END1 (rs5370)нинг аллел ва генотипик вариантларини тақсимланиш таҳлили, ИТП ривожланиш механизмида яллиғланиш олди цитокин TNF- α (rs1800629), IL-1 β (rs1143627), IL-6 (rs1800795) генлар полиморфизмининг нохуш генотипларини учраш даражасини баҳолаш орқали касаллик ривожланиш хавфи молекуляр-генетик маркерлари рўйхати тузилганлиги билан изоҳланган.

Тадқиқотнинг амалий аҳамияти ИМТВ ва ИТПнинг ривожланиш хавфини башорат қилишда генетик омилнинг ўрни, шунингдек, ИМТВда клиник кечишини генотипик хусусиятлар билан боғлиқлиги, ИМТВ (TNF- α (rs1800629) ва VEGFA (rs2010963)) ва ИТП (TNF- α (rs1800629)) билан хасталанган беморларда яллиғланишга қарши цитокин генларини ўрганиш зарурияти уларнинг касаллик патогенезида иштирок этганлиги сабабли асосланган ва исботланган. ИМТВ ва ИТПнинг ривожланиш ва оғир кечиш хавфини башорат қилиш учун молекуляр-генетик технологиялардан фойдаланган ҳолда, беморларни комплекс текшириш асосида мезонлар такомиллаштирилган.

Тадқиқот натижаларининг жорий қилиниши. Баъзи геморрагик диатезларнинг клиник-биокимёвий ва молекуляр-генетик хусусиятлари бўйича олинган илмий натижалар асосида:

«TNF α (rs1800629) ва VEGFA (rs2010963) цитокин генларининг полиморф вариантларининг детекция усулини такомиллаштириш» услубий тавсиянома тасдиқланган (Соғлиқни сақлаш вазирлигининг 2019 йил 22 июлдаги 8н-д/178-сон маълумотномаси). Мазкур тавсиянома TNF α (rs1800629) ва VEGFA (rs2010963) полиморфизмининг нохуш генотипларини тутишидаги ўрнини, ИМТВ ва ИТПнинг кечишида оғирлик даражасининг шаклланишида ушбу генларнинг аҳамиятини баҳолаш имконини берган;

«Молекуляр-генетик тадқиқот усуллари асосида иммун микротромбоваскулитнинг оғир кечишини дифференциал профилактика усули» услубий тавсиянома тасдиқланган (Соғлиқни сақлаш вазирлигининг 2019 йил 22 июлдаги 8н-д/178-сон маълумотномаси). Мазкур тавсиянома ИМТВнинг оғир кечишини молекуляр-генетик усуллари асосида дифференциал профилактик усули аниқлаш имконини берган;

«Иммун микротромбоваскулит ва иммун тромбоцитопениянинг кадамма кадам алгоритм ташхисоти» услубий тавсиянома тасдиқланган (Соғлиқни сақлаш вазирлигининг 2019 йил 22 июлдаги 8н-д/178-сон маълумотномаси).

Мазкур тавсиянома ИМТВ ва ИТПнинг қадамма қадам баҳолаш алгоритмини асослаш имконини берган;

баъзи геморрагик диатезларнинг клиник-биокимёвий ва молекуляр-генетик хусусиятлари бўйича олинган илмий натижалар соғлиқни сақлаш соҳаси амалиётига, жумладан, Республика шошилинич тез тиббий ёрдам марказининг Сирдарё филиали ва Хоразм вилояти кўп тармоқли тиббиёт марказининг клиник амалиётига татбиқ этилган (Соғлиқни сақлаш вазирлигининг 2019 йил 8 ноябрдаги 8н-з/184-сон маълумотномаси). Олинган натижаларни амалиётга жорий қилиниши ИМТВ ва ИТПни предиктив ташхислаш сифатини яхшилашга, касалликларни ривожланиш хавфини ва оғир кечишини башорат қилиш, шунингдек, ушбу касалликларга чалинган беморларнинг яшаш сифатини яхшилашга имкон берган.

Тадқиқот натижаларининг апробацияси. Мазкур тадқиқот натижалари 8 та илмий-амалий анжуманда, жумладан, 4 та халқаро ва 4 та республика илмий-амалий анжуманларида муҳокамадан ўтказилган.

Тадқиқот натижаларининг эълон қилинганлиги. Диссертация мавзуси бўйича жами 23 та илмий иш, шулардан Ўзбекистон Республикаси Олий аттестация комиссиясининг фан доктори диссертациялари асосий илмий натижаларини чоп этиш тавсия этилган илмий нашрларда 14 та мақола, жумладан, 10 таси республика ва 4 таси хорижий журналларда нашр этилган.

Диссертациянинг тузилиши ва ҳажми. Диссертация таркиби кириш, олтита боб, хулоса ва фойдаланилган адабиётлар рўйхатидан иборат. Диссертациянинг ҳажми 180 бетни ташкил этган.

ДИССЕРТАЦИЯНИНГ АСОСИЙ МАЗМУНИ

Кириш қисмида ўтказилган тадқиқотларнинг долзарблиги ва аҳамияти, ушбу ишга талаб асослаб берилган, тадқиқот мақсади, вазифалари, тадқиқот объекти ва предмети тавсифланган, мазкур тадқиқотларнинг республика фан ва технологияларининг устувор йўналишларига мос келиши кўрсатиб берилган, тадқиқотнинг илмий янгилиги ва унинг амалий натижалари ўз ифодасини топган, олинган натижаларнинг илмий ва амалий аҳамияти очиб берилган, тадқиқот натижаларининг амалиётга жорий қилиниши, чоп этилган ишлар ва диссертациянинг таркибий тузилиши бўйича маълумотлар келтирилган.

Диссертациянинг «**Иммун микротромбоваскулит ва иммун тромбоцитопениянинг шаклланиш механизмлари, кечиши ва башоратлашнинг замонавий талқини**» деб номланган биринчи бобида ИМТВ ва ИТП этиологияси ва патогенези ҳақида замонавий қарашлар, шунингдек ушбу патологияларнинг ривожланиши ва кечишида ген полиморфизмлари ўрни аниқ келтирилган. Шу билан бирга, ИМТВ ва ИТП шаклланиш механизмида генетик полиморфизмларнинг иштирокини ўрганиш бўйича мавжуд бўлган тадқиқотлар бир бирига қарама-қарши характерда эканлиги кўрсатилган. Ўзбек миллатига мансуб шахсларда ушбу касалликларни шаклланишига олиб

келувчи асосий номзод-генларни топиш ва молекуляр-генетик механизмларини баҳолаш тизими таҳлил қилинган. Мазкур муаммонинг илмий жиҳатдан ҳал этилишининг муаллифлик ёндашуви ишлаб чиқилган.

Диссертациянинг «**Иммун микротромбоваскулит ва иммун тромбозитопениянинг ривожланиши ва кечишини башоратлаш материал ва усуллари**» деб номланган иккинчи бобида тадқиқотнинг материаллини ташкил қилган беморларнинг клиник характеристикаси таърифланган ва ушбу ишнинг олиб борилишида қўлланилган клиник, биокимёвий ва молекуляр-генетик усуллар ҳақида маълумотлар аниқ келтирилган.

Диссертациянинг қўйилган вазифаларига мос равишда, Гематология ва қон куйиш илмий текшириш институти клиникасида даволанган ва назоратда бўлган 240 нафар (асосий гуруҳ, эркаклар - 30,8%, аёллар - 69%) бемор, булардан ИМТВ (105) ва ИТП (135) билан хасталанган беморларда комплекс текширувлар ўтказилган. Беморлар мурожаатига қараб тасодифий усулда танлаб олинган. ИМТВ билан хасталанган беморлар ёши 16 дан 80 ёшгача (ўртача $42,1 \pm 3,9$ ёш) бўлган, ИТП билан хасталанган беморлар ёши эса 16 дан 81 ёшгача (ўртача $39,4 \pm 3,5$ ёш) бўлган оралиқни ташкил этган. Назорат гуруҳини 81 нафар ўзбек миллатига мансуб қариндош бўлмаган, анамнезида гемостаз патологияси кузатилмаган, асосий гуруҳ беморлар билан ёши ва жинси мос келадиган шартли соғлом шахслар ташкил қилган. Олинган натижалар таҳлили учун беморлар нозология, касаллик босқичи ва клиник кўрсаткичларга мувофиқ: жинси, ташхис қўйилгандаги ёши, касалликларнинг шакли, касалликнинг кечиши ва давомийлиги асосида гуруҳ ва гуруҳчаларга бўлинган.

Тадқиқот усуллари клиник, биокимёвий, молекуляр-генетик ва статистик усулларида иборат бўлган.

Клиник усуллар шикоятлар, анамнестик маълумотларни йиғиш ва беморларни объектив кўригини ўз ичига олган.

Гемостаз тизими ҳолатига баҳо бериш, Фонио бўйича фазо-контраст усули ёрдамида периферик қонда гемограмма кўрсаткичлари бўйича тромбоцитлар миқдорини санаш; веноз қонда томир-тромбоцитлар тизимни кўрсаткичларини баҳолаш: аденозиндифосфат (АДФ 1,0 и 0,5 ммоль концентрацияда) билан индуцирланган тромбоцитлар агрегациясини (ТА), Виллебранд омили (ВО), В.П. Балуда ва ҳаммуаллифлар (1980) бўйича қон лахтаси ретракциясини аниқлаш; коагуляцион гемостаз тизимида (қисман фаоллашган тромбопластин вақти (ҚФТВ), протромбин индекси (ПТИ), тромбин вақти (ТВ), эрувчан фибрин-мономер комплекслар (ЭФМК), фибриноген миқдорини аниқлаш, шунингдек қоннинг антикоагулянт тизимида: антитромбин III (АТ III), Г.Ф. Еремин ва А.Г. Архипов (1982) бўйича XII –а боғлиқ фибринолиз фаоллашувини аниқлаш, НПО «РЕНАМ» (Россия) реактивларини қўллаш йўли орқали амалга оширилди.

Циркуляцияда юрувчи иммун комплекслар преципитация усули асосида, 4% ва 6% концентрацияли полиэтиленгликол 6000 (ПЭГ-6000) эритмаларини қўллаган ҳолда аниқланди.

ИМТВ ва ИТП беморларда, шунингдек шартли соғлом шахсларда TNF- α (rs1800629), IL-1 β (rs1143627), IL-6 (rs1800795), VEGFA (rs2010963), AGTR1 (rs5186) ва END1 (rs5370) генларининг полиморф вариантларини молекуляр-генетик текшируви учун материал сифатида веноз қон ишлатилди. Генотиплаш полимераз занжир реакцияси (ПЗР) ёрдамида, кейинчалик ПЗР махсулотлари бўлган полимераз узун рестрикция фрагментлар (ПУРФ) таҳлили амалга оширилган. ДНК геноми 0,5 М этилендиаминтетраацетатда (ЭДТА) стабилизацияланган веноз қон лейкоцитларининг ядросидан ажратиб олиниб, кейинчалик унинг концентрацияси спектрофотометрда ўлчаб олинган. Амплификацияланган фрагментлар ўзига хослиги ва миқдори агароза гелида электрофорез усули ёрдамида текширилган. Амплификация ва рестрикция махсулотлари 6,0-10,0% да 2,0-3,0% агароз ёки полиакриламид гелида ажратилган. Агароз гелида амплификация махсулотлари детекцияси учун горизонтал электрофорез учун «Хеликон» («ДНК-Технология») камераси ишлатилган. Бемор генотиби, ПЗР-ПУРФ таҳлили ўтказилган натижасидаги гелда аниқланган ДНК фрагментлари тўпламига мослиги асосида аниқланган.

TNF- α (rs1800629), IL-1 β (rs1143627), IL-6 (rs1800795), VEGFA (rs2010963), AGTR1 (rs5186) ва END1 (rs5370) генларининг полиморфизмини детекция қилишда нуклеотидларнинг кетма кетлиги «Oligo v. 6. 31» (Molecular Biology Insights Inc., АКШ) дастурини қўллаш йўли билан танлаб олинган ва НПФ «Литех» (Россия) томонидан синтезланган (1-жадвалга қаранг).

1-жадвал

ПЗРни олиб бориш учун қўлланилган олигонуклеотидлар праймерларининг рўйхати

| Генлар | Полиморфизм | Олигопраймерлар таркиби |
|---------------|-------------|--|
| TNF- α | rs1800629 | F: 5' AATAGGTTTTGAGGGCCATG-3' R: 5' ATCTGGAGGAAGCGGTAGTG-3' |
| IL-1 β | rs1143634 | F: 5' CTCAGGTOTCCTCGAAGAAATCAAA-3' R: 5' GCT TTT TTG CTG TGA GTC CCG-3' |
| IL-6 | rs1800795 | F: GACCTAAGCTGCACTTTTC R: GGTGAGACTCTAATATTGAGAC |
| VEGFA | rs2010963 | F: GCCAATTCAAGCCCAGTCCTTTCTGTGTTTA TTCCCATCTCTCCCAAAT R: CTGATACACTGTCTGCAAACATATC |
| AGTR1 | rs5186 | F: 5'-CACTTCACTACCAAATGAGC R: A TTAGCTACTTTTCAGAATTG-3' |
| END1 | rs5370 | F: 5' TGCGGTGTAGGGAACGGCCTGAG 3 R: 5' CTCCTGGAGGTCACGGCTCAAGG 3' |

Олинган натижалар статистик ишлови «OpenEpi 2009, Version 2.3» дастури ёрдамида персонал компьютерда амалга оширилган. Текширилган гуруҳлар орасида генотипларнинг учраш даражасидаги фарқни аниқлаш учун Фишер аниқ мезонлари қўлланилган. Текширилган гуруҳларда генотипларни тарқалиш мослиги Харди-Вайнберг қонунлик тарқалиш « χ^2 » мезонлари

ёрдамида баҳоланган. Гуруҳлар орасидаги статистик аҳамиятли фарқ $p < 0,05$ муҳимлилик белгиси билан кўрсатилган.

Диссертациянинг «**Иммун микротромбоваскулит ва иммун тромбоцитопениянинг клиник-биокимёвий хусусиятларини**» деб номланган учинчи бобида ИМТВ ва ИТП клиник ва биокимёвий кўринишини ўрганганлик натижалари кўрсатилган. Белгиланганки, ИМТВ ва ИТПда ҳам касалланишнинг юқори даражаси ёш категорияли шахсларда (50,5% ва 54,4%), энг кам учраши эса, қари ёшдаги шахсларга тўғри келган (2,0% ва 1,5%). Шу билан бирга, ИМТВ ва ИТП билан беморлар мурожаати даражаси йилнинг мавсумига боғлиқлиги ҳам аниқланган, яъни энг кўп мурожаат кишки (26,7% и 45,2%) ва баҳорги (37,0% и 34,1%) мавсумларга, энг кам мурожаат эса, ёзги (13,3% и 14,1%) мавсумга тўғри келган. Бундан ташқари, ИМТВ ва ИТП ривожланишида асосий ролни бактериял ва вирусли инфекция чақириши, касалликнинг қайталаниши эса, беморларда сурункали инфекция ўчоқларининг хуружи билан асосланган (ИМТВда 81,9%; ИТПда 74,8% ҳолларда), бу иммунокомплекс жараёнларни қўлловчи манбалар бўлиб, касаллик ривожланишида патогенетик йўлни баён этувчи адабиётлар маълумотларини тўлиқ тасдиқлайди (Min Yan, Zhan Wang, Na Niu, Jianxia Zhao and Jian Peng, 2015).

ИМТВ ва ИТП билан хасталанган беморларнинг клиник текширувида кўп ҳолларда касалликнинг ўртача оғирлик даражаси аниқланди. ИМТВда I оғирлик даражаси 22,9% (24), II ва III оғирлик даражаси 53,3% (56) ва 23,8% (25) беморларда мос равишда қайд этилган. ИТП билан оғирган беморларда касалликнинг оғирлик даражаси геморрагик синдромнинг зўрарайиши бўйича баҳоланди (БЖССТ, 2012): I даража - 17,0% (23), II - 56,3% (76) ва III оғирлик даражаси 26,7% (36) беморларда аниқланган.

ИМТВ да асосий клиник синдромларни учраш даражаси куйидагича аниқланган: тери синдроми – 100%, бўғим синдроми – 86,7%, абдоминал – 36,2%, буйрак синдроми – 4,8%; ИТП да тери синдроми – 100,0%, қон кетишлар – 83,0%. Шунингдек айтиб ўтиш керакки, ИМТВ ва ИТП нинг энг кўп учровчи клиник кўриниши, петехиал геморрагик тошма сифатида намоён бўлувчи тери геморрагик синдроми (100,0% и 100,0%) ташкил қилди, бу нафақат ташхислашда, балки ўзаро гуруҳлар ўртаси дифференциал ташхислашга, шу қаторда ушбу касалликларга ўхшаш бошқа хасталиклар билан ҳам таққослашда қийинчилик туғдиради. Бунга исбот қилиб, ИМТВ билан хасталанганларнинг 39%, ИТП билан хасталанганларнинг 28% бошқа ташхис билан даволанганлигини айтиш мумкин. Ўз навбатида бу, касалларни кеч ва жуда оғир асоратли ҳолда мурожаатига олиб келган.

Ушбу маълумотлар қаторида ИМТВ (абдоминал ва нефротик синдромларнинг оғир кўриниши, ошқозон-ичак трактидан қон кетиши, касалликнинг йилига 2 мартадан кўпроқ такрорланиши), шунингдек ИТПда (оғир қон кетишлар, касалликнинг йилига 2 мартадан кўпроқ такрорланиши) оғир кечишининг башорат клиник предикторлари белгиланган.

ИМТВ ва ИТПда гемостаз тизими текширув натижаларининг таққосий таҳлили касаллик турига қараб, ушбу тизимда кўрсаткичлар турли

йўналишга қараб ўзгарганлигини аниқлашга имкон берган. Назорат гуруҳга нисбатан, ИМТВ билан хасталанган беморларда гиперкоагуляция, яъни ҚИВ - 1,6 (196,4±9,4 с. қарши 311,81±2,18 с., $p<0,05$) баравар қисқариши, тромбоцитлар агрегациясининг 1,06 (АДФ 1,0 ммол концентрациясида 60,3±2,0 с. қарши 56,79±0,97 с., $p>0,05$) баравар фаоллашиши, ЭФМК - 1,75 (6,76±0,2 г/л қарши 3,85±0,05 г/л, $p<0,05$) баравар ошиши, АТ III - 1,1 (95,7±0,7% қарши 106±0,97%, $p<0,05$) баравар фаоллигини пасайиши ва ВОнинг - 1,14 (114,9±2,8% қарши 100,4±1,4%, $p<0,05$) баравар ошганлиги билан намоён бўлди (2-жадвалга қаранг).

2-жадвал

Назорат ва ИМТВ билан хасталанган беморларнинг асосий гуруҳида гемостаз тизимини кўрсаткичлари, (M±m)

| Кўрсаткичлар | Назорат гуруҳи, (n=73) | Асосий гуруҳ, (n=105) | t | P |
|--|------------------------|-----------------------|-------|--------|
| ҚИВ, сония | 311,81±2,18 | 196,4±9,4 | 11,96 | <0,001 |
| ҚКВ, сония | 96,71±1,75 | 99,2±1,4 | 1,11 | >0,05 |
| ТА (АДФ 1 ммоль, %) | 56,79±0,97 | 60,3±2,0 | 1,58 | >0,05 |
| ТА (АДФ 0,5 ммоль, %) | 28,95±0,53 | 28,9±0,87 | 0,05 | >0,05 |
| ҚАТВ, сония | 30,68±0,28 | 31,3±0,4 | 1,27 | >0,05 |
| ПТИ, % | 90,93±1,15 | 99,5±0,86 | 5,97 | <0,001 |
| ТВ, дақиқа | 8,86±0,13 | 12,8±0,13 | 21,43 | <0,001 |
| Фибриноген, г/л | 3,2±0,05 | 4,05±0,076 | 9,34 | <0,001 |
| ХIIа- боғлиқ фибринолиз фаоллашувини, дақиқа | 6,42±0,13 | 8,9±0,25 | 8,80 | <0,001 |
| АТ III, % | 106±0,97 | 95,7±0,7 | 8,61 | <0,001 |
| ЭФМК, г/л | 3,85±0,05 | 6,76±0,2 | 14,12 | <0,001 |
| ВО, % | 100,4±1,4 | 114,9±2,8 | 4,63 | <0,001 |

Назорат гуруҳига нисбатан, ИТП билан касалланган беморларда эса, қон ивишининг фаоллашувини пасайиши билан, яъни ҚКВ - 1,8 (179,0±9,7 с. қарши 96,97±1,59 с., $p<0,05$) баравар узайиши, тромбоцитлар сонининг - 2,0 (100,1±7,34×10⁹/л қарши 220,3±2,84×10⁹/л, $p<0,05$) баравар камайиши, тромбоцитлар агрегацияси - 2,1 (АДФ 1 ммол концентрациясида 26,6±2,1% қарши 57,13±0,96%, $p<0,05$) ва 2,25 (АДФ 0,5 ммол концентрациясида 12,9±1,08% қарши 29,07±0,52%, $p<0,05$) баравар ва қон лахтаси ретракциясининг - 1,7 (0,17±0,01 қарши 0,3±0,009, $p<0,05$) бараварга пасайиши билан намоён бўлган (3-жадвалга қаранг).

Назорат ва ИТП билан хасталанган беморларнинг асосий гуруҳида гемостаз тизимини кўрсаткичлари, (M±m)

| Кўрсаткичлар | Назорат гуруҳи, (n=81) | Асосий гуруҳ, (n=135) | t | P |
|--|-------------------------------|------------------------------|----------|----------|
| ҚИВ, сония | 310,33±2,05 | 320,4±1,9 | 14,34 | <0,001 |
| ҚКВ, сония | 96,97±1,59 | 179,0±9,7 | 8,35 | <0,001 |
| Тромбоцитлар, 10 ⁹ /л | 220,3±2,84 | 100,1±7,34 | 15,27 | <0,001 |
| ТА (АДФ 1 ммоль, %) | 57,13±0,96 | 26,6±2,1 | 13,22 | <0,001 |
| АТ (АДФ 0,5 ммоль, %) | 29,07±0,52 | 12,9±1,08 | 13,49 | <0,001 |
| АЧТВ, сония | 30,5±0,28 | 30,4±0,3 | 0,24 | >0,05 |
| ПТИ, % | 90,83±1,07 | 93,1±0,82 | 1,68 | >0,05 |
| ТВ, сония | 8,9±0,12 | 10,06±0,15 | 6,04 | <0,001 |
| Фибриноген, г/л | 4,1±0,53 | 3,78±0,32 | 0,52 | >0,05 |
| ХIIа- боғлиқ фибринолиз фаоллашувини, дақиқа | 6,44±0,15 | 8,1±0,2 | 6,64 | <0,001 |
| Ретракция | 0,3±0,009 | 0,17±0,01 | 9,66 | <0,001 |

Шу билан бирга, назорат гуруҳга нисбатан ИМТВ билан хасталанган беморлар асосий гуруҳида йирик ЦЮИК концентрациясининг 2 баравардан кўпроқ (25,4±1,9 ш.б. қарши 11,5±0,3 ш.б., p<0,05) ва майда 1,6 баравар (47,3±2,5 ш.б. қарши 28,8±0,6 ш.б., p<0,05), шунингдек ИТП билан хасталанган беморлар асосий гуруҳида йирик ЦЮИК концентрациясининг 2 баравар (25,4±1,9 ш.б. қарши 11,6±0,3 ш.б., p<0,05) ва майда 1,7 баравар (47,3±2,5 ш.б. қарши 29,1±0,5 ш.б., p<0,05) ошиши билан кечган, бу эса ИМТВ ва ИТПда авж олиш босқичи ва оғир кечишини аниқлашда зарур башорат маркёри бўлиб ҳисобланган.

ИМТВ ва ИТП кечиш оғирлик даражаси клиник ва кимёвий бузилишларнинг яққоллиги орасидаги белгиланган боғлиқлик, ушбу касалликлар кечишидаги башоратни аниқлаб берувчи клиник-лаборатор предикторларни аниқлашга имкон берган. Ўз навбатида, клиник-биокимёвий текширувлардан олинган маълумотлар, ИМТВ ва ИТП кечишини ташхислашда ва башоратлашда уларнинг аҳамиятли ва зарурлигидан далолат беради.

Диссертациянинг «Иммун микротромбоваскулитда генларнинг аллел полиморфизмлари хусусиятлари» деб номланган тўртинчи бобида ўтказилган тадқиқотнинг натижалари кўрсатилган.

ИМТВ билан хасталанган беморларда (n=75) ва шартли соғлом шахслардан ташкил топган назорат гуруҳида (n=73) юқорида айтиб ўтилган генларнинг полиморф вариантларини аниқлашда уларнинг нохуш генотип ва минор аллелларни тақсимланишидаги генетик хусусиятлари аниқланган. ИМТВ билан хасталанган беморлар ҳамда назорат гуруҳида генларнинг генотиплари кузатилиш (Hobs) тақсимланиш сони Харди-Вайнберг қонуниятига мос холда, кутилаётган тақсимотга (Hexp) га мос бўлган ($p>0.05$).

ИМТВ билан хасталанган беморлар асосий гуруҳида TNF- α (rs1800629) генининг кўпроқ А минор аллели (14.0% қарши 7.5%) ва G/A нохуш гетерозиготали генотип (28.0% қарши 15.1%) кузатилган, шу билан бирга, аҳамиятли характердаги фарқ фақатгина касаллик авж олган босқичдаги беморларда яққол кўринди (4-жавдалга қаранг).

4-жадвал

TNF- α (rs1800629) гени полиморфизмининг аллел ва генотипларини назорат ва ИМТВ билан хасталанган беморлар гуруҳларидаги учраш даражаси

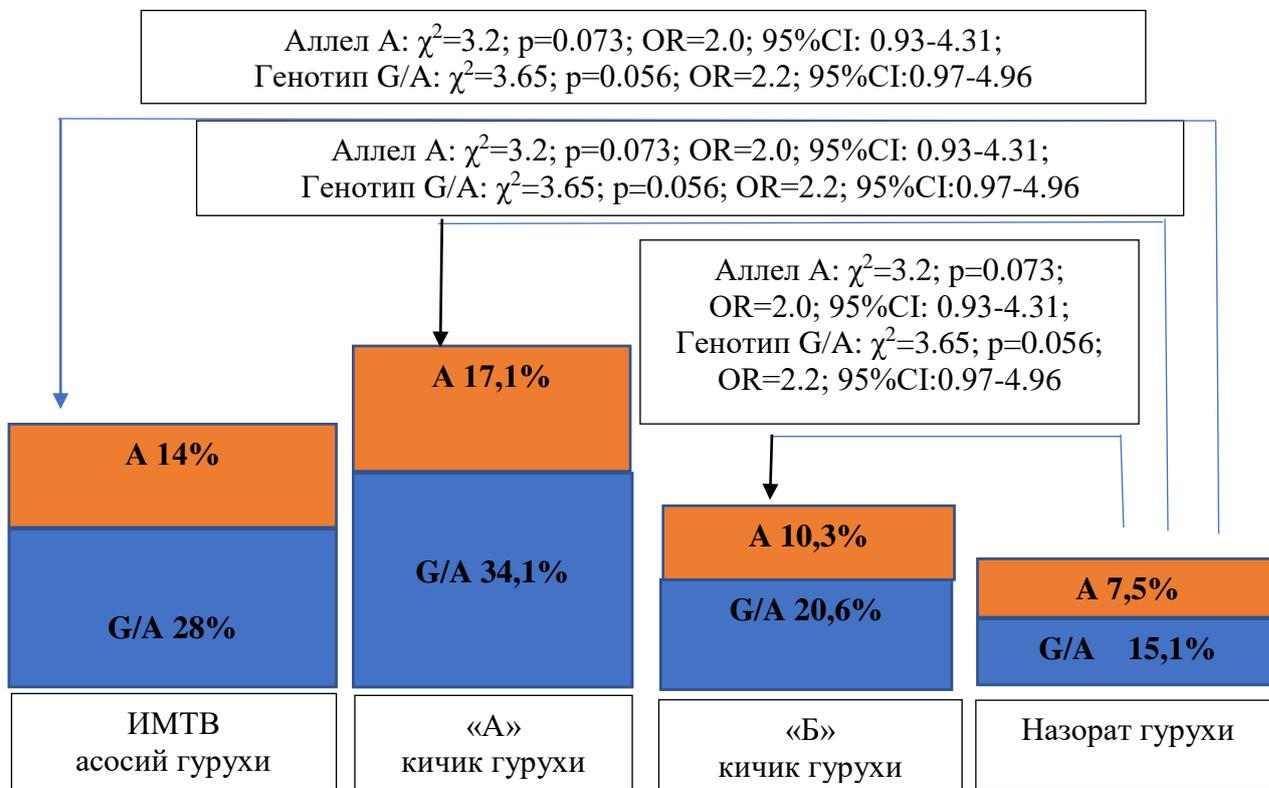
| Гурух | n | Аллелларнинг учраш даражаси | | | | Генотипларнинг тақсимланиш даражаси | | | | | |
|------------------------|----|-----------------------------|------|----|------|-------------------------------------|------|-----|------|-----|---|
| | | G | | A | | G/G | | G/A | | A/A | |
| | | n | % | n | % | n | % | n | % | n | % |
| Асосий гурух, улардан: | 75 | 129 | 86,0 | 21 | 14,0 | 54 | 72,0 | 21 | 28,0 | 0 | 0 |
| «А» - гурухча | 41 | 68 | 82,9 | 14 | 17,1 | 27 | 65,9 | 14 | 34,1 | 0 | 0 |
| «Б» - гурухча | 34 | 61 | 89,7 | 7 | 10,3 | 27 | 79,4 | 7 | 20,6 | 0 | 0 |
| Назорат гурух | 73 | 135 | 92,5 | 11 | 7,5 | 62 | 84,9 | 11 | 15,1 | 0 | 0 |

Назорат гуруҳига нисбатан, ИМТВ билан беморларнинг «А» кичик гуруҳида TNF- α (rs1800629) полиморф гени А аллелини ташиш улуши 2,53 ($\chi^2=4.9$; $p=0.03$; OR=2.53; 95%CI: 1.089-5.86) ва гетерозиготали G/A генотипини 2,9 баравар ($\chi^2=5.9$; $p=0.02$; OR=2.9; 95%CI: 1.18-7.26) юқори бўлганлиги аниқланган. Шу билан бирга, ИМТВ билан беморларнинг «Б» гуруҳидаги натижаларни таҳлил қилишда А аллелни ва G/A генотипни ташувчиларининг улуши назорат гуруҳидаги улушга нисбатан статистик жиҳатдан сезиларли даражада фарқ бўлмаган 1,4 ($\chi^2<3.85$; $p>0.05$; OR=1.4; 95%CI: 0.52-3.81) ва 1,5 ($\chi^2<3.85$; $p>0.05$; OR=1.5; 95%CI: 0.51-4.18) бараварга ошганлиги аниқланган (1- расмга қаранг).

Шундай қилиб, олинган натижалар TNF- α (rs1800629) генининг ИМТВ ривожланишида ва ушбу касалликда яллиғланиш олди жараёнларини ушлаб туришда асосий рол ўйнашидан далолат беради.

Асосий ИМТВ ва назорат гуруҳлари ўртасида IL1 β (rs1143627) ва IL6 (rs1800795) генлари полиморфизмлари минор аллел (IL1 β (rs1143627) учун С аллель: 16.0% қарши 15.7%; $\chi^2=0.0034$; $p=0.95$ ва IL6 (rs1800795) учун G

аллель: 14.7% қарши 19.9%; $\chi^2=1.4$; $p=0.2$) ва генотипларнинг (IL1 β (rs1143627) учун T/C генотип: 32.0% қарши 28.8%; $\chi^2=1.17$; $p=0.56$ ва IL6 (rs1800795) учун C/G генотип: 29.3% қарши 37.0%; $\chi^2=2.14$; $p=0.34$) тақсимланишида сезиларли фарқлар аниқланмади. Бу ўз навбатида ИМТВ ривожланиш ҳавфи билан ўзаро боғлиқликнинг йўқлигидан далолат берди.



1-Расм. TNF- α (rs1800629) ген полиморфизми нохуш А аллел ва G/A генотиби ўрганилган гуруҳларда тақсимланиш даражаси

VEGFA (rs2010963) гени полиморфизми хусусиятларини ўрганишда ИМТВ билан хасталанган беморларда G минор аллелини ва C/G ва G/G генотипларини учраши бўйича, назорат гуруҳига нисбатан аҳамиятли фарқ борлиги аниқланган. Бунда, асосий гуруҳда G аллелининг учраши 31,3% ($\chi^2=13.14$; $p=0.0003$)ни ташкил қилган бўлса, назорат гуруҳида эса ушбу кўрсаткич 13,7% ни ташкил қилди. Мутант C/G ва G/G генотиплар тутиш улуши назорат гуруҳига нисбатан 2 маротаба кўпроқ ошганлигини кўрсатди (49.3% қарши 21.9% ва 6.7% қарши 2.7%; $\chi^2=15.08$; $p=0.0005$). Шу билан бирга ИМТВ билан хасталанган беморларнинг «А» ва «Б» кичик гуруҳларида ҳам ўхшаш ўзгаришлар кузатилди. Хусусан, «А» кичик гуруҳда назорат гуруҳи билан таққослаганда нохуш G аллелнинг даражаси 2,9 баравар ($\chi^2=10.57$; $p=0.0012$; OR = 2.9; 95%CI: 1.51-5.67), «Б» кичик гуруҳда эса 2,8 баравар ($\chi^2=8.845$; $p=0.003$; OR=2.815; 95%CI: 1.401-5.657) юқорилиги аниқланган. Аниқланган аҳамиятли фарқлар VEGFA (rs2010963) гени G аллелнинг ИМТВ ривожланиш хавфи билан боғлиқлигини кўрсатади (5-жадвалга қаранг).

VEGFA (rs2010963) гени полиморфизмининг аллел ва генотипларини назорат ва ИМТВ беморлар гуруҳларидаги учраш даражаси

| Гуруҳ | n | Аллелларнинг учраш даражаси | | | | Генотипларнинг тақсимланиш даражаси | | | | | |
|------------------------|----|-----------------------------|------|----|------|-------------------------------------|------|-----|------|-----|-----|
| | | C | | G | | C/C | | C/G | | G/G | |
| | | n | % | n | % | n | % | n | % | n | % |
| Асосий гуруҳ, улардан: | 75 | 103 | 68,7 | 47 | 31,3 | 33 | 44,0 | 37 | 49,3 | 5 | 6,7 |
| «А» - гуруҳча | 41 | 56 | 68,3 | 26 | 31,7 | 17 | 41,4 | 22 | 53,7 | 2 | 4,9 |
| «Б» - гуруҳча | 34 | 47 | 69,1 | 21 | 30,9 | 16 | 47,1 | 15 | 44,1 | 3 | 8,8 |
| Назорат гуруҳ | 73 | 126 | 86,3 | 20 | 13,7 | 55 | 75,3 | 16 | 21,9 | 2 | 2,7 |

Кўрсатилган хусусиятлар билан бир қаторда VEGFA (rs2010963) ген полиморфизми генотипларининг учраш даражасини тақсимлаш бўйича ҳам ўзгаришлар кузатилган. Иккала кичик гуруҳларида ҳам генотипларнинг учала вариантлари, шу жумладан ноёб мутант G/G генотиби ташувчанлиги ҳам қайд этилган. «А» ва «Б» кичик гуруҳларда назорат гуруҳига нисбатан нохуш гетерозиготали C/G генотиби 4,45 ва 3,22 баравар («А» кичик гуруҳда учун: $\chi^2=12.8$; $p=0.0003$; OR=4.45; 95%CI: 1.91-10.3 ва «Б» кичик гуруҳда учун: $\chi^2=6.82$; $p=0.009$; OR=3.22; 95%CI: 1.31–7.91) ва мутант G/G генотиби 3,23 ва 5,16 баравар («А» кичик гуруҳда учун: $\chi^2=1.41$; $p=0.23$; OR=3.24; 95%CI: 0.42–24.73 ва «Б» кичик гуруҳда учун: $\chi^2=3.5$; $p=0.061$; OR=5.16; 95%CI: 0.79–33.58) ошганлиги аниқланган.

VEGFA (rs2010963) гени полиморф вариантларининг текширув натижалари G минор аллели ва C/G ва G/G генотиплари ўзбек миллатига мансуб шахсларда ИМТВ ривожланиш ҳавфини аниқ оширишидан далолат беради. Бу ҳолат балки, беморларда мажор C аллелнинг ва C/C генотипининг протектив самарасини йўқотиши, бу эса ИМТВ хасталигида микромиромирлар эндотелийсида шикастловчи яллиғланиш жараёнларини ишлаб кетиши билан боғлиқлик борлигини исботлаши мумкин.

AGTR1 (rs 5186) гени полиморф вариантлари хусусиятларини ўрганишда биз томонимиздан, аллел ва генотипларнинг учраш даражаси тақсимланишида аҳамиятли фарқ йўқлиги аниқланди. Бунда, асосий ИМТВ билан беморлар ва назорат гуруҳларида C аллелининг учраш даражаси 40,7% ва 42,3% ($\chi^2=0.099$; $p=0.75$)ни, A/C ва C/C генотиплари эса – 41,3% ва 49,3%, шунингдек – 20,0% ва 17,8% ($\chi^2=0.96$; $p=0.62$) ни ташкил қилган. Шунга ўхшаш натижа END1(rs5370) гени полиморфизмини аниқлашда ҳам кузатилган. ИМТВ билан касалланган беморларда минор Asn аллелининг учраш даражаси 30,7% ($\chi^2=1.7$; $p=0.2$)ни ташкил қилган бўлса, назорат гуруҳида бу кўрсаткич 24%ни ташкил этди. Шунга мос равишда, ИМТВ билан хасталанган беморларда ва шартли соғлом гуруҳларда Lys/Asn и Asn/Asn нохуш генотипларининг улуши аҳамиятли бўлмаган фарқни

кўрсатди (48,0% қарши 39,7% ва 6,7% қарши 4,1%; $\chi^2=1.9$; $p=0.39$). Олинган натижаларга асосан маълум бўлдики, AGTR1 (rs 5186) ва END1 (rs5370) генларининг полиморф вариантлари ўзбек миллатига мансуб шахсларда ИМТВ шаклланиш хавфи билан боғлиқлиги йўқлиги аниқланган.

ИМТВ ривожланиш хавфи билан боғлиқ генлар полиморф вариантларининг нохуш генотипларини биргаликдаги боғлиқлиги мавжуд ёки мавжуд эмаслигини аниқлаш учун, биз томонимиздан уларни турли комбинацияларда ўрганиш амалга оширилди. Натижада, асосий ИМТВ беморлар гуруҳида назорат гуруҳига нисбатан ўрганилган генетик полиморфизмларнинг нохуш генотипларнинг мавжуд бўлган комбинациялар ташувчанлигида сезиларли фарқлар аниқланмади.

Шундай қилиб, ўзбек миллатига мансуб, ИМТВ ва шартли соғлом гуруҳларда TNF- α (rs1800629) и VEGFA (rs2010963) генларининг полиморф вариантлари минор аллеллар ва генотипларнинг тутиш генетик хусусиятлари таққосий таҳлили натижалари ИМТВ шаклланиш механизмида уларнинг жалб қилинганлигини аниқ кўрсатди.

Диссертациянинг «Имму́н тромбоцитопенияда цитокин генлари аллел полиморфизмларининг хусусиятлари» деб номланган бешинчи бобида ИТП билан беморлар (n=89) ва шартли соғлом шахсларда (n=81) яллиғланиш олди цитокин TNF- α (rs1800629), IL-1 β (rs1143627) ва IL-6 (rs1800795) генларининг генетик хусусиятлари натижалари келтирилган. ИТП билан хасталанган беморлар ҳамда назорат гуруҳида генларнинг генотиплари кузатилиш (Hobs) тақсимланиш сони Харди-Вайнберг қонуниятига мос ҳолда кутилаётган тақсимотга (Нехр)га мос бўлган ($p>0.05$).

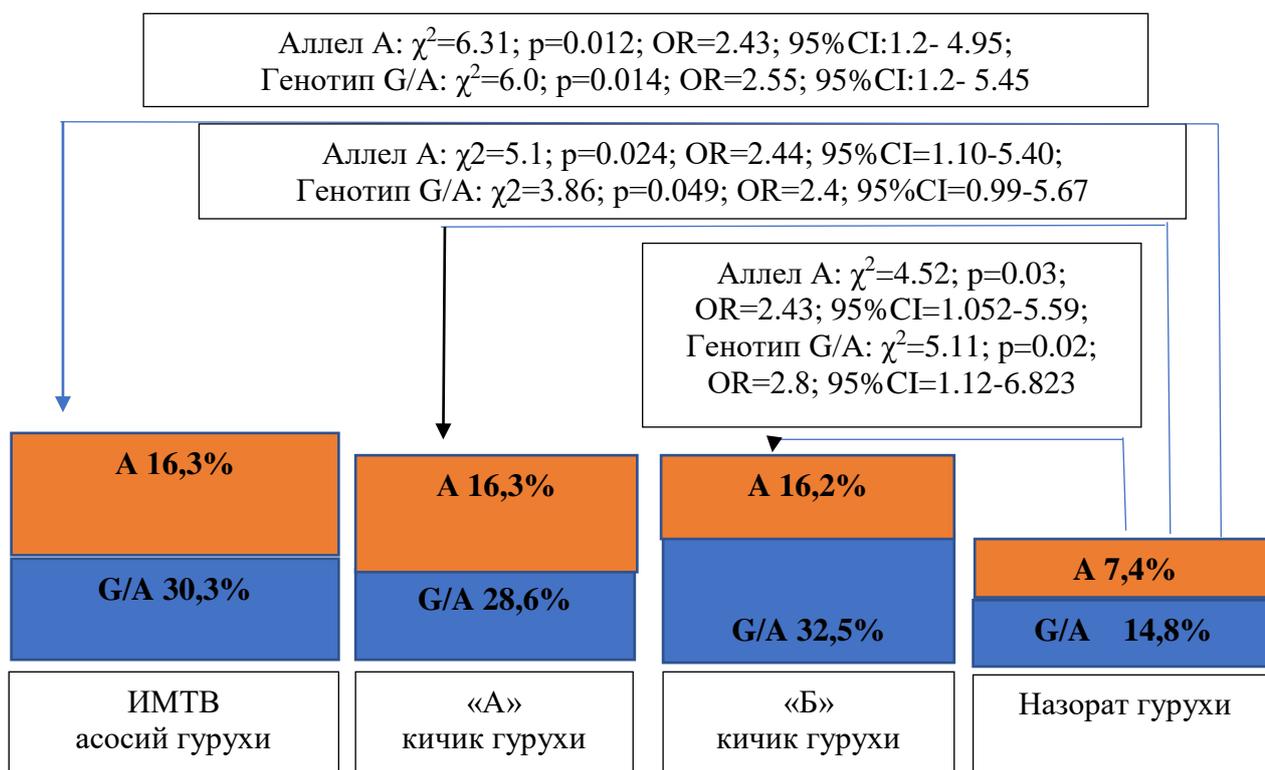
Ўтказилган тадқиқотлар TNF- α (rs1800629) генининг полиморф вариантлари ИТП асосий беморлар гуруҳида назорат гуруҳига нисбатан А минор аллелининг (16.3% қарши 7.4%; $\chi^2=6.31$; $p=0.012$; OR=2.43; 95%CI: 1.2-4.95) ва TNF- α (rs1800629) генининг G/A (30.3% қарши 14.8%; $\chi^2=6.0$; $p=0.014$; OR=2.55; 95%CI:1.2-5.45) нохуш гетерозигот генопининг учраши 2 баравардан кўпроқ ишончли ошганлигини кўрсатди (6-жавдалга қаранг).

6-жадвал

TNF- α (rs1800629) гени полиморфизмининг аллел ва генотипларини назорат ва ИТП билан хасталанган беморлар гуруҳларидаги учраш даражаси

| Гуруҳ | n | Аллелларнинг учраш даражаси | | | | Генотипларнинг тақсимланиш даражаси | | | | | |
|------------------------|----|-----------------------------|------|----|------|-------------------------------------|------|-----|------|-----|-----|
| | | G | | A | | G/G | | G/A | | A/A | |
| | | n | % | n | % | n | % | n | % | n | % |
| Асосий гуруҳ, улардан: | 89 | 149 | 83,7 | 29 | 16,3 | 61 | 68,5 | 27 | 30,3 | 1 | 1,1 |
| «А» - гуруҳча | 49 | 82 | 83,7 | 16 | 16,3 | 34 | 69,4 | 14 | 28,6 | 1 | 2,0 |
| «Б» - гуруҳча | 40 | 67 | 83,8 | 13 | 16,2 | 27 | 67,5 | 13 | 32,5 | 0 | 0 |
| Назорат гуруҳ | 81 | 150 | 92,3 | 12 | 7,4 | 69 | 85,2 | 12 | 14,8 | 0 | 0 |

Шунингдек, таъкидлаб ўтиш керакки, бир ҳолатда ИТП беморлар гуруҳида А/А мутант генотиби мавжудлиги «А» гуруҳида қайд қилинганлиги ҳисобига аниқланди. Нохуш А аллели ва G/A генотиби даражасининг ошиши ИТП беморларнинг ҳар иккала «А» ва «Б» гуруҳларида қайд этилди. Агардаки, А аллели ва G/A генотиби улуши беморларнинг авж олиш босқичида 16.3% ($\chi^2=5.1$; $p=0.024$; OR=2.44; 95%CI: 1.10-5.40) ва 28.6% ($\chi^2=3.86$; $p=0.049$; OR=2.4; 95%CI: 0.99-5.67) ни ташкил қилган бўлса, ремиссияда бўлган беморлар гуруҳида бу кўрсаткичлар 16.2% ($\chi^2=4.52$; $p=0.03$; OR=2.43; 95%CI: 1.052-5.59) ва 32.5% ($\chi^2=5.11$; $p=0.02$; OR=2.8; 95%CI: 1.12-6.823)ни ташкил этди (2-расмга қаранг).



2-расм. TNF- α (rs1800629) ген полиморфизми нохуш А аллел ва G/A генотиби ўрганилган гуруҳларда тақсимланиш даражаси

TNF- α (rs1800629) геннинг А минор аллели ва G/A генотиби даражасининг асосий беморлар гуруҳида ўртача ишончли ошиш аҳамияти шундан далолат берадики, уларни кузатилиши ИТП ривожланиш хавфини яққол ошириб беради.

TNF- α (rs1800629) гени полиморфизмини ўрганиш билан бирга, яллиғланиш олди цитокин IL1 β (rs1143627) ва IL6 (rs1800795) генлари полиморф вариантларининг учраш даражаси ҳам ўрганилган. Тадқиқот натижалари IL1 β (rs1143627) ва IL6 (rs1800795) генлари полиморфизмининг минор аллеллар ва генотипларнинг тақсимланиши шартли соғлом ва ИТП билан беморлар гуруҳида аҳамиятли фарқни мавжуд эмаслигини кўрсатди. Хусусан, асосий ИТП билан беморлар гуруҳида IL1 β (rs1143627) гени полиморфизми учун С аллелининг, Т/С ва С/С генотипларининг даражаси 24.2% ($\chi^2=2.91$; $p=0.09$; OR=1.6; 95%CI: 0.93-2.7), 37.1% ($\chi^2=1.5$; $p=0.23$;

OR=0.7; 95%CI: 0.35-1.285) ва 5.6% ($\chi^2=1.065$; $p=0.3$; OR=0.425; 95%CI: 0.08-2.255)ни ташкил қилган бўлса, IL6 (rs1800795) гени полиморфизми учун эса, минор G аллел 18.0% ($\chi^2<3.85$; $p>0.05$; OR=0.9; 95%CI: 0.50-1.47) ва C/G генотиби 35.9% ($\chi^2<3.85$; $p>0.05$; OR=1.2; 95%CI: 0.63-2.17)ни ташкил этди. Шунингдек, шунга ўхшаш ҳолат ИТП билан хасталанган беморларнинг «А» ва «Б» гуруҳчаларида ҳам кузатилди. Хусусан, олинган маълумотлар асосида таъкидлашимиз мумкинки, яллиғланиш олди цитокин IL1 β (rs1143627) ва IL6 (rs1800795) генлари полиморфизмлари минор аллел ва генотипларини тутувчилар ИТП ривожланишида юқори ҳавф туғдирмайди, яъни ўзбек миллатига мансуб шахсларда ушбу ген полиморфизмлари ИТП шаклланиши билан боғлиқ эмас.

Ўрганилган TNF- α (rs1800629), IL-1 β (rs1143627) ва IL-6 (rs1800795) генлар биргаликдаги таъсир феноминини эҳтимолий комбинацияда ўрганиш, назорат ва беморлар гуруҳлари орасида ИТП ривожланиш ҳавфи ошиши билан бу генларнинг ўртасида мумкин бўлган ўзаро боғлиқлик, статистик аҳамиятга эга бўлган фарқни кўрсатмади.

Шундай қилиб, TNF- α (rs1800629), IL1 β (rs1143627) ва IL6 (rs1800795) генларининг полиморф вариантларини тақсимланиш генетик хусусиятларининг таққосий таҳлили натижалари ИТП билан хасталанган беморлар ва назорат гуруҳида TNF- α (rs1800629) генининг ИТП патогенезида муҳим аҳамиятга эга эканлигидан далолат беради.

Диссертациянинг олтинчи «**Иммуно микротромбоваскулит ва иммуно тромбоцитопения оғирлик даражаси билан генларнинг полиморфизмлари боғлиқлиги ва уларни башоратлаш аҳамияти**» бобида ИМТВ ва ИТП билан касалланган беморлар клиник ва генетик маълумотлар статистик таҳлил натижалари кўриб чиқилган, шунингдек ўрганилган кўрсаткичлар ўртасида боғлиқликни, ИМТВ ва ИТП билан беморларда касалликнинг оғир кечишига олиб келувчи предикторларни аниқлаш имконини берди.

Натижада ИМТВнинг оғир кечиши предиктори сифатида VEGFA (rs2010963) гени G/G мутант генотипини башоратлаш аҳамияти мавжудлиги ($\chi^2>3.8$ $p<0.05$), шу билан бирга TNF- α (rs1800629) гени нохуш генотипларини ИМТВ ва ИТП оғир кечишининг ривожланишида башоратлаш аҳамияти мавжуд эмаслиги аниқланди.

Шундай қилиб, клиник-биокимёвий кўрсаткичлари билан генларнинг полиморф вариантларининг биргаликда қўлланилганлиги ИМТВ ва ИТП ривожланиши ва кечишида башорат мезонларини такомиллаштиришга патогенетик ва фундаментал асос бўлди.

Муҳокамани яқунлашда шуни таъкидлаш керакки, тадқиқотдан олинган натижалар ИМТВ ва ИТП шаклланишидаги механизмлар ҳақида замонавий фикрларни кенгайтиришга имкон беради. Генетик полиморфизмлар таҳлили, уларнинг аллел ва генотипик вариантларини даражаси аҳоли ўртасида ИМТВ ва ИТП ривожланишидаги мойилликни аниқлашда мониторинг ўтказишга, уларнинг нохуш кечишидаги ривожланиши башоратини баҳолашга, ушбу

касаллик билан хасталанган беморларда асоратларни профилактикасида дифференциал ёндашувига имкон беради.

ХУЛОСАЛАР

«Баъзи геморрагик диатезларнинг клиник-биокимёвий ва молекуляр-генетик хусусиятлари» мавзусидаги фан доктори (DSc) диссертацияси бўйича олиб борилган тадқиқот натижаларида қуйидаги хулосалар тақдим этилди:

1. Комплекс клиник-биокимёвий текширувларнинг молекуляр-генетик технологияларни биргаликда қўлланилганлиги, иммун микротромбоваскулит ва иммун тромбоцитопениянинг ривожланишида генетик омиллар муҳим рол ўйнашини кўрсатиб берди.

2. Иммун микротромбоваскулит билан хасталанган беморларда TNF- α (rs1800629) генининг G/A, VEGFA (rs2010963) генининг C/G ва G/G нохуш генотипларининг, шунингдек иммун тромбоцитопения билан хасталанган беморларда TNF- α (rs1800629) генининг G/A нохуш генотипининг ишончли ошиши аниқланди. Ишончли фарқларни мавжудлиги ($p < 0,05$) касалликлар патогенезида ушбу генларнинг генотипик вариантларини муҳим ўрни мавжудлигидан далолат берди.

3. Касалликнинг оғирлигига қараб, иммун микротромбоваскулитда VEGFA (rs2010963) генининг мутант G/G генотипи тарқалиш даражасида фарқлар аниқланди, бу эса ушбу касалликнинг оғир кечишини башорат қилувчи генетик маркери сифатида аниқлашга имкон берди.

4. Иммун микротромбоваскулит оғир кечишининг ривожланиш ҳавфида TNF- α (rs1800629) генининг G/A генотипи ва VEGFA (rs2010963) генининг C/G генотипи, шунингдек иммун тромбоцитопения оғир кечиши ривожланиш ҳавфида TNF- α (rs1800629) генининг G/A генотипи аҳамияти мавжуд эмаслиги аниқланди.

5. Иммун микротромбоваскулитда IL-1 β (rs1143627), IL-6 (rs1800795), AGTR1 (rs5186) и END1 (rs5370), иммун тромбоцитопенияда IL-1 β (rs1143627), IL-6 (rs1800795) генларининг полиморфизмлари касаллик ривожланишига ва кечиш оғирлигига таъсир кўрсатмаслиги аниқланди.

6. Клиник-биокимёвий ва молекуляр-генетик таҳлил натижалари асосида иммун микротромбоваскулит ва иммун тромбоцитопения ривожланиш ва кечишининг башорат мезонлари такомиллаштирилди.

**НАУЧНЫЙ СОВЕТ DSc.27.06.2017.Tib.30.02.
ПО ПРИСУЖДЕНИЮ УЧЕНЫХ СТЕПЕНЕЙ ПРИ ТАШКЕНТСКОЙ
МЕДИЦИНСКОЙ АКАДЕМИИ**

**НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ГЕМАТОЛОГИИ И
ПЕРЕЛИВАНИЯ КРОВИ**

МАТКАРИМОВА ДИЛФУЗА САБУРОВНА

**КЛИНИКО-БИОХИМИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-
ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ НЕКОТОРЫХ ФОРМ
ГЕМОМРАГИЧЕСКИХ ДИАТЕЗОВ**

14.00.29 – Гематология и трансфузиология

**АВТОРЕФЕРАТ
докторской (DSc) диссертации по медицинским наукам**

Ташкент – 2019

Тема диссертации доктора наук (DSc) по медицинским наукам зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Кабинете Министров Республики Узбекистан за № В2017.3.DSc/Tib220.

Диссертация выполнена в НИИ Гематологии и переливания крови Минздрава Республики Узбекистан.

Автореферат диссертации на трех языках (узбекский, русский, английский (резюме)) размещен на веб-странице Научного совета (www.tma.uz) и Информационно-образовательного портала «ZiyoNet» (www.ziynet.uz).

| | |
|-------------------------------|---|
| Научный консультант: | Каримов Хамид Якубович доктор медицинских наук, профессор |
| Официальные оппоненты: | Бахрамов Саиджалол Махмудович доктор медицинских наук, профессор Бабаджанова Шоира Агзамовна доктор медицинских наук, профессор Гильдиева Маргарита Сабировна доктор биологических наук |
| Ведущая организация: | Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования (ФГБОУ ВО) «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» МЗ РФ |

Защита диссертации состоится «_____» _____ 2019 года в _____ часов на заседании Научного совета DSc27.06.2017.Tib.30.02 при Ташкентской медицинской академии (Адрес 100109, г.Ташкент, Алмазарский район, ул. Фароби, 2. Тел/факс: (+99878) 150-78-25, e-mail: tta2005@mail.ru).

С диссертацией можно ознакомиться в Информационно-ресурсном центре Ташкентской медицинской академии (зарегистрирован за №_____). (Адрес: 100109, г.Ташкент, Алмазарский район, улица Фароби, 2. Тел/факс: (+99878) 150-78-14).

Автореферат диссертации разослан «_____» _____ 2019 года.
(реестр протокола рассылки №_____ от «_____» _____ 2019 года)

А. Г. Гадаев
председатель Научного совета по
присуждению ученых степеней, доктор
медицинских наук, профессор

Д. А. Набиева
ученый секретарь Научного совета по
присуждению ученых степеней, доктор
медицинских наук

А. Л. Аляви
председатель научного семинара при
Научном совете по присуждению
ученых степеней, доктор медицинских
наук, профессор, академик

ВВЕДЕНИЕ (аннотация докторской (DSc) диссертации)

Актуальность и востребованность темы диссертации. Среди общей патологии человека отмечается рост заболеваемости геморрагическими диатезами (ГД). Распространенность этих заболеваний «... в странах Европы среди детского населения составляет 3-27, в странах Северной Америки и Азии - 21,1, Тайване - 12,9, Великобритании - 20,4 и в России - 13,5 - 25 случаев на 100000 населения в год...»¹. ГД характеризуются повсеместным распространением, многообразием клинических проявлений, высокой частотой развития тяжелых геморрагических и тромбогеморрагических осложнений, нередко приводящих к летальному исходу. В общей структуре ГД по частоте своей встречаемости среди всех популяций и возрастных групп населения, полиморфности и тяжести клинического течения особое место отводится патологиям первичного звена гемостаза приобретенного характера, а именно иммунному микротромбоваскулиту (ИМТВ) и иммунной тромбоцитопении (ИТП). «...обе патологии проявляются весьма схожим клиническим признаком в виде кожно-геморрагического синдрома, по микроциркуляторному типу (петехии), вместе с тем, заболевания часто возникают еще в детском возрасте и со временем приобретают хронический и тяжелый характер течения...»². В этой связи, определение роли носительства неблагоприятных аллелей и генотипов генов провоспалительных цитокинов TNF- α (rs1800629), IL-1 β (rs1143627), IL-6 (rs1800795), VEGFA (rs2010963), гена ангиотензиновой системы AGTR1 (rs5186), а также гена END1 (rs5370) в механизмах развития ИМТВ, а также полиморфизмов генов провоспалительных цитокинов TNF- α (rs1800629), IL-1 β (rs1143627), IL-6 (rs1800795) при ИТП, оценка значимости этих генов в формировании тяжести течения, ассоциации их с выраженностью клинических и биохимических проявлений этих заболеваний, проведение сравнительного анализа активности ключевых генов провоспалительных цитокинов TNF- α (rs1800629) и VEGFA (rs2010963) у пациентов с ИМТВ, и гена TNF- α (rs1800629), у пациентов с ИТП на фоне носительства различных вариантов полиморфных генов имеют отдельное значение.

В мире проводятся научные исследования по оценке клинико-биохимических и молекулярно-генетических особенностей геморрагических диатезов. В частности, они направлены на изучение клинического течения, прогнозирование развития, определение клинических предикторов степени тяжести, биохимических особенностей ИМТВ и ИТП, а также их взаимосвязь с клиническими проявлениями заболеваний. Вместе с этим, отдельное значение представляют изучение особенностей полиморфных вариантов генов провоспалительных цитокинов, генов ангиотензиновой и

¹ Mahévas M., Fain O., Ebbo M. et al. The temporary use of thrombopoietin-receptor agonists may induce a prolonged remission in adult chronic immune thrombocytopenia. Results of a French observational study // Br J Haematol 2014; 165: 865-9.

² López-Mejías R., Castañeda S., Genrea F., Remuzgo-Martínez S., Carmona D., Llorca J., Blanco R., Martín J., González-Gay M. A. Genetics of immunoglobulin-A vasculitis (Henoch-Schönlein purpura): An updated review//Autoimmunity Reviews Volume 17, Issue 3, March 2018, Pages 301-315.

эндотелиальной систем у пациентов ИМТВ и генов провоспалительных цитокинов при ИТП, определение наличия значимых ассоциаций между клинико-биохимическими и генетическими проявлениями заболеваний.

В нашей стране в соответствие с требованиями международных стандартов для развития медицинской сферы, предупреждения и снижения осложнений геморрагических диатезов и различных геморрагических заболеваний с неизвестной этиологией посредством молекулярно-генетической диагностики определены такие задачи, как «...повысить эффективность, качество и доступность медицинской помощи в стране, а также путем разработки эффективных моделей патронажной службы и диспансеризации внедрить высокотехнологичные методы диагностики, лечения и профилактики заболеваний, поддержка здорового образа жизни...»³. Реализация этих задач позволит повысить уровень современной медицинской помощи в прогнозировании и лечении ИМТВ и ИТП, а также путем применения усовершенствованных современных технологий при оказании медицинского обслуживания снизить показатели инвалидности и смертности от осложнений этих заболеваний.

Данное диссертационное исследование, в определенной степени, способствует реализации задач, определенных в Указах Президента Республики Узбекистан от 7 февраля 2017 года УП за №4947 «О Стратегии действий развития Республики Узбекистан», от 16 марта 2017 года УП за №4985 «О мерах по дальнейшему совершенствованию неотложной медицинской помощи», от 7 декабря 2019 года УП за №5590 «О комплексных мерах по коренному усовершенствованию системы здравоохранения Республики Узбекистан», Постановлениях Президента от 20 июня 2017 года ПП за №3071 «О мерах по дальнейшему развитию специализированной медицинской помощи населению Республики Узбекистан в 2017-2021 годы», от 4 апреля 2017 года ПП за №2866 «О мерах по улучшению медицинской помощи и дальнейшему развитию медицинских услуг населению Республики Узбекистан в 2017–2021 годах», а также задач обозначенных в других нормативно-правовых документах касающихся деятельности в данном направлении.

Соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий республики. Диссертационная работа выполнена в соответствие с приоритетным направлением науки и технологий Республики Узбекистан VI. «Медицина и фармакология».

Обзор зарубежных научных исследований по теме диссертации⁴. Научные исследования, направленные на оценку клинико-биохимических и молекулярно-генетических особенностей некоторых форм геморрагических диатезов, проводятся в ведущих исследовательских центрах и университетах мира, в том числе Goethe-University (Германия), University of British Columbia

³ Указ Призидента Республики Узбекистан за № УП 5590 «О комплексных мерах по коренному совершенствованию системы здравоохранения Республики Узбекистан» от 7 декабря 2018 года.

⁴ Обзор зарубежных научных исследований по теме диссертации: www.goethe-university-frankfurt.de, www.utexas.edu, ubc.ca, www.berkeley.edu, www.uark.edu, www.virginia.edu, www.pitt.edu, www.ncl.ac.uk, www.uio.no/english, www.useoul.edu, www.pkuf.org, www.gematologiya.uz и на основе других источников.

(Канада), University of California, University of Texas, University of Arkansas, University of Virginia, University of Pittsburgh (США), University of São Paulo (Бразилия), Newcastle University (Великобритания), University of Oslo (Норвегия), Seoul National University (Корея), Guangzhou Hoffmann Institute of Immunology, Peking University (Китай), в научно-исследовательском институте Гематологии и переливания крови (Узбекистан).

Проводятся научные исследования для достижения высокой эффективности в определении клинических, биохимических и молекулярно-генетических особенностей геморрагических диатезов, включая обоснование причины и патогенетических механизмов кровопотери вследствие геморрагических осложнений при геморрагических диатезах (Goethe-University, Germany); обоснована необходимость проведения молекулярно-генетического тестирования в комплексе со стандартными диагностическими методами для диагностики ИМТВ и ИТП (University of Texas, США); кроме того, при этих заболеваниях доказан механизм и система диагностики по фенотипическим и генетическим проявлениям (Radboud University, Нидерланды); доказано развитие эндотелиальной дисфункции при ИМТВ (Universitas Indonesia, Indonesia.); определены показатели смертности от осложнений ИМТВ и ИТП (Gaziosmanpasa University, Турция; University of British Columbia, Канада; University of California, США; Newcastle University, Великобритания); доказана эффективность оценки клинико-биохимических и молекулярно-генетических особенностей некоторых форм геморрагических диатезов (Научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови, Узбекистан).

В мире проводятся исследования по усовершенствованию оценки клинико-биохимических и молекулярно-генетических особенностей некоторых форм геморрагических диатезов, включая следующие исследования по приоритетным направлениям: определение особенностей клинического течения ИМТВ и ИТП; оценка особенностей полиморфных вариантов генов провоспалительных цитокинов при этих заболеваниях; определение возможной связи между клинико-биохимическими и генотипическими проявлениями у пациентов с ИМТВ и ИТП.

Степень изученности проблемы. Изучение механизмов формирования ИМТВ и ИТП является приоритетным направлением в ряде крупных научно-исследовательских центрах мира (Garbe E., Andersohn F., Bronder E., et al. Drug-induced immune thrombocytopaenia: results from the Berlin Case-Control Surveillance Study, 2012; Juwon Kim. IL-1 β -31 and IL-1Ra polymorphisms associated with increased host susceptibility to immune thrombocytopenia, 2017; Mahévas M., Fain O., Ebbo M., et al. The temporary use of thrombo-poietin-receptor agonists may induce a prolonged remission in adult chronic immune thrombocytopenia, 2014). Известно, что в развитии этих мультифакторных заболеваний важное место отводится как индивидуальным особенностям и настроенности организма, так и воздействию экзо- и эндогенных факторов, от интенсивности воздействия которых во многом определяется риск их формирования (Marieke H. Heineke, Aranka V. Ballering, Agnès Jamin et al.,

2017; Morgan D. S., Abdel-Raouf R., Afifi A. et al., 2017). Результаты исследований за последние несколько лет показали важное значение молекулярно-генетических полиморфизмов в формировании ИМТВ и ИТП (И.И. Зотова, 2018; Raquel López-Mejías et al., 2018).

Оценка вклада генетических полиморфизмов в механизмы развития ИМТВ и ИТП является одним из наиболее перспективных направлений современной гематологии. Известно, что в патогенезе этих заболеваний значительная роль отводится генам-регуляторам иммунного ответа и ангиотензиновой системы, в частности, на сегодня существуют достоверные данные о вовлеченности генов цитокинов, принимающих непосредственное участие в процессах регуляции иммунного ответа при ИМТВ и ИТП. Однако, имеющиеся опубликованные результаты исследований по изучению механизмов формирования ИМТВ и ИТП не позволяют сделать однозначных выводов, в связи с чем, исследования в этом направлении востребованы и актуальны.

Расширение инновационных стратегий и внедрение высоких технологий в нашей Республике позволяют направленно подойти к разработке основ доказательной медицины, включающих в себя такие важные аспекты, как механизмы формирования, разработка эффективных методов прогнозирования развития тяжести течения и рисков развития осложнений ИМТВ и ИТП.

Связь диссертационной работы с планами научно-исследовательских работ научно-исследовательского учреждения, где выполнена диссертация. Диссертационное исследование выполнено в рамках плана научно-исследовательских работ научно-исследовательского института Гематологии и переливания крови ППИ-149 «Разработка новых видов лечения и методов дифференцированной терапии и профилактики заболеваний, а так же неблагоприятного влияния факторов окружающей среды, на основе выявления генетического полиморфизма и других детерминант патологических состояний организма человека» (2015-2018 гг).

Цель исследования совершенствование методов прогнозирования развития и тяжести клинического течения иммунного микротромбоваскулита и иммунной тромбоцитопении на основе изучения клинико-биохимических и генетических проявлений заболеваний.

Задачи исследования:

на основе оценки клинических и биохимических показателей у больных иммунным микротромбоваскулитом и иммунной тромбоцитопении выделить предикторы тяжести течения заболеваний;

определить особенности распределения аллелей и генотипов полиморфных вариантов генов провоспалительных цитокинов TNF- α (rs1800629), IL-1 β (rs1143627), IL-6 (rs1800795), VEGFA (rs2010963), гена ангиотензиновой системы AGTR1 (rs5186) и END1 (rs5370) у больных иммунным микротромбоваскулитом;

определить особенности распределения аллелей и генотипов полиморфных вариантов генов провоспалительных цитокинов TNF- α

(rs1800629), IL-1 β (rs1143627) и IL-6 (rs1800795) у больных иммунной тромбоцитопенией;

оценить наличие ассоциации между полиморфными маркерами представленных генов – кандидатов и риском развития иммунного микротромбоваскулита и иммунной тромбоцитопении;

выявить взаимосвязь между тяжестью клинического течения иммунного микротромбоваскулита и иммунной тромбоцитопении с изучаемыми генными полиморфизмами;

на основе анализа клинических, биохимических и генотипических проявлений выявить значимые факторы риска, и усовершенствовать критерии прогноза развития и течения иммунного микротромбоваскулита и иммунной тромбоцитопении.

Объектом исследования явились 240 неродственных больных, находившихся на наблюдении и лечении в Научно-исследовательском институте Гематологии и переливания крови в период с 2012 по 2018 годы, из которых 105 больных составили лица с ИМТВ и 135 – с ИТП. В контрольную группу вошли условно-здоровые неродственные лица (n=81).

Предметом исследования явились материалы исследования больных и условно-здоровых лиц: периферической крови для подсчета количества тромбоцитов, венозная кровь для определения: показателей системы гемостаза (время свертывания крови (ВСК), длительность кровотечения (ДК), агрегация тромбоцитов (АТ), активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), протромбиновый индекс (ПТИ), тромбиновое время (ТВ), фибриноген, ретракция кровяного сгустка, фибрин-мономерные комплексы (РФМК), антитромбин III (АТ-III), фактор Виллебранда (ФВ)); для определения концентрации циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК); для детекции полиморфных вариантов генов TNF- α (rs1800629), IL-1 β (rs1143627), IL-6 (rs1800795), VEGFA (rs2010963), AGTR1 (rs5186) и END1 (rs5370) с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Методы исследования. В исследовании применены клинические, биохимические, молекулярно-генетические и статистические методы исследования.

Научная новизна исследования заключается в следующем:

выделены предикторы тяжелого течения иммунного микротромбоваскулита (тяжесть проявлений абдоминального и нефротического синдромов, кровотечение из ЖКТ, рецидивы более 2 раз в год) и иммунной тромбоцитопении (изнуряющие кровотечения, рецидивы более 2 раз в год). При клинической ремиссии заболеваний изменения в системе гемостаза и повышение уровня ЦИК можно рассматривать как предикторы обострения и хронизации процесса;

проведен комплексный молекулярно-генетический анализ и определены особенности распределения частот аллелей и генотипов полиморфных локусов генов TNF- α (rs1800629), IL-1 β (rs1143627), IL-6 (rs1800795), VEGFA (rs2010963), AGTR1 (rs5186), END1 (rs5370) у больных иммунным

микротромбоваскулитом, и генов TNF- α (rs1800629), IL-1 β (rs1143627), IL-6 (rs1800795) у больных иммунной тромбоцитопенией;

установлена патогенетическая роль и значимость генотипических вариантов генов TNF- α (rs1800629) и VEGFA (rs2010963) в формировании иммунного микротромбоваскулита, а также гена TNF- α (rs1800629) в развитии иммунной тромбоцитопении;

в зависимости от тяжести течения заболевания выявлены значимые различия в частоте встречаемости мутантного генотипа G/G гена VEGFA (rs2010963) у больных иммунным микротромбоваскулитом. Показана значимость этого генетического маркера для доклинического прогнозирования развития тяжелого течения заболевания;

определены прогностические критерии развития и тяжелого течения иммунного микротромбоваскулита и иммунной тромбоцитопении на основании анализа клинико-биохимических и генетических показателей.

Практические результаты исследования заключаются в следующем:

наряду со стандартными методами исследования в комплекс диагностических мероприятий для предиктивной диагностики иммунного микротромбоваскулита предложено включить молекулярно-генетическое исследование полиморфных вариантов генов TNF- α (rs1800629) и VEGFA (rs2010963), для иммунной тромбоцитопении - гена TNF- α (rs1800629);

доказана целесообразность использования полиморфизма гена VEGFA (rs2010963) в качестве генетического маркера тяжелого течения иммунного микротромбоваскулита;

усовершенствованы критерии прогноза развития, характера течения иммунного микротромбоваскулита и иммунной тромбоцитопении, позволяющие определить группы пациентов с низким и высоким риском развития тяжелого течения заболеваний.

Достоверность результатов исследований обосновывается правильностью использованного в работе теоретического подхода, применением адекватных и высокоспецифичных, современных, взаимодополняющих клинических, биохимических и молекулярно-генетических методов исследования, достаточным числом пациентов и точностью результатов проведенных анализов, подвергнутых статистической обработке, рациональной оценкой и сопоставлением полученных результатов с международными и отечественными исследованиями, одобрением выводов полученных результатов уполномоченными структурами.

Научная и практическая значимость результатов исследования. Теоретическая значимость работы заключается в том, что выявлены особенности клинических проявлений и биохимических нарушений у взрослых пациентов ИМТВ и ИТП. В нарушениях свертывания крови показана ведущая роль активации сосудисто-тромбоцитарного гемостаза у пациентов ИМТВ и снижение ее активности при ИТП. Оценена роль молекулярно-генетических факторов в развитии и течении ИМТВ и ИТП, определены особенности распределения частот аллелей и генотипов полиморфных локусов генов провоспалительных цитокинов TNF- α

(rs1800629), IL-1 β (rs1143627), IL-6 (rs1800795), VEGFA (rs2010963), гена ангиотензиновой системы AGTR1 (rs5186), END1 (rs5370) у больных ИМТВ и генов провоспалительных цитокинов TNF- α (rs1800629), IL-1 β (rs1143627), IL-6 (rs1800795) у больных ИТП, по результатам исследования составлен перечень молекулярно-генетических маркеров риска развития ИМТВ и ИТП.

Практическая значимость исследования заключается в том, что доказана и обоснована необходимость исследования генов провоспалительных цитокинов у больных ИМТВ (TNF α (rs1800629) и VEGFA (rs2010963)) и ИТП (TNF α (rs1800629)) ввиду их вовлеченности в патогенез заболевания. Усовершенствованы критерии прогнозирования риска развития и тяжести течения ИМТВ и ИТП на основе комплексного обследования больных с применением молекулярно-генетических технологий. Установлена роль генетического фактора в прогнозировании риска развития ИМТВ и ИТП, связь тяжести клинического течения с генотипическими особенностями при ИМТВ.

Внедрение результатов исследования. На основании полученных научных результатов по изучению клинико-биохимических и молекулярно-генетических особенностей при ИМТВ и ИТП:

Утверждены методические рекомендации «Усовершенствование метода детекции полиморфных вариантов генов цитокинов TNF α (rs1800629) и VEGFA (rs2010963)» (утверждено в Министерстве здравоохранения за № 8н-д/178 от 22 июля 2019 г.). Данные рекомендации позволили оценить роль носительства неблагоприятных генотипов полиморфизмов генов TNF α (rs1800629) и VEGFA (rs2010963) в развитии и тяжести течения ИМТВ и ИТП;

«Способ дифференциальной профилактики тяжести течения иммунного микротромбоваскулита на основе молекулярно-генетических методов исследования» (утверждено в Министерстве здравоохранения №8н-д/178 от 22 июля 2019 г.) Данные рекомендации на основе молекулярно-генетических методов позволяют определить способы дифференциальной профилактики тяжелого течения ИМТВ;

«По этапный алгоритм диагностики иммунного микротромбоваскулита и иммунной тромбоцитопении» (утверждено в Министерстве здравоохранения №8н-д/178 от 22 июля 2019 г.). Данные рекомендации предоставляют возможность обоснования поэтапного диагностического алгоритма ИМТВ и ИТП.

Научные результаты по клинико-биохимическим и молекулярно-генетическим особенностям ИМТВ и ИТП внедрены в медицинскую практику, в том числе в клиническую практику Сырдарьинского филиала Республиканского научного Центра экстренной медицинской помощи и Хорезмского областного многопрофильного медицинского центра (заключение Министерства Здравоохранения Республики Узбекистан от 8 ноября 2019 года за №8н-р/184). Внедрение полученных результатов в практику позволило улучшить качество предиктивной диагностики,

прогнозирование риска развития, тяжести течения ИМТВ и ИТП, тем самым улучшить качество жизни больных с этими заболеваниями.

Апробация результатов исследования. Результаты данного исследования были обсуждены на 8 научных конференциях, в том числе 4 зарубежных и 4 республиканских научно-практических конференциях с международным участием.

Публикация результатов исследования. По теме диссертации опубликовано 23 научные работы, из них 14 статей, в том числе 10 в республиканских и 4 в зарубежных журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Республики Узбекистан для публикации основных научных результатов диссертации доктора наук (DSc).

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, шести глав, заключения и списка использованной литературы. Объем диссертации составляет 180 страниц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Во **Введении** обоснована актуальность и востребованность диссертационной работы, сформулированы цель, задачи, объект и предмет исследования, показано соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и техники Республики Узбекистан, излагается научная новизна и практические результаты работы, раскрываются научная и практическая значимость, внедрение в практику результатов исследования, сведения об опубликованных работах и структуре диссертации.

В первой главе диссертации под названием **«Современные взгляды на механизмы формирования, течение и прогнозирование иммунного микротромбоваскулита и иммунной тромбоцитопении»** приведены современные представления об этиологии и патогенезе ИМТВ и ИТП, а также подробно представлена роль полиморфизмов генов в развитии и клиническом течении этих патологий. Вместе с этим показано, что результаты существующих исследований по изучению участия генетических полиморфизмов в механизмах формирования ИМТВ и ИТП имеют противоречивый характер. В связи с чем, очевидна важность изучения молекулярно-генетических механизмов и поиск ключевых генов-кандидатов, имеющих вклад в формирование ИМТВ и ИТП. Разработан авторский подход к научному решению этой проблемы.

Во второй главе диссертации **«Материалы и методы прогнозирования развития и течения иммунного микротромбоваскулита и иммунной тромбоцитопении»**, описана клиническая характеристика больных, составивших материал исследования, подробно приведены сведения о лабораторных и инструментальных методах, использованных в настоящей работе. В соответствии с поставленными задачами диссертации проведено комплексное обследование 240 неродственных больных (мужчин - 30,8%, женщин - 69,2%) с ИМТВ (105) и ИТП (135), находившихся на наблюдении и

лечении в клинике Научно-исследовательского института Гематологии и переливания крови МЗ РУз.

Верификацию диагноза ИМТВ проводили согласно современным классификационным критериям EULAR, PRINTO и PreS (2010), ИТП согласно рекомендациям международных экспертов международного консенсуса.

Отбор больных производился методом случайной выборки по мере обращения. Возраст больных ИМТВ находился в диапазоне от 16 до 80 лет (медиана возраста $42,1 \pm 3,9$ лет), больных ИТП - от 16 до 81 лет (медиана $39,4 \pm 3,5$ лет). Контрольную группу составили 81 условно-здоровые неродственные лица, не имевшие в анамнезе патологии системы гемостаза, соответствовавшие по полу и возрасту обследованной основной группе больных.

Для исключения межэтнических различий все обследованные принадлежали к узбекской этнической группе.

Для анализа полученных данных проведено распределение пациентов на группы и подгруппы с учетом нозологии, стадии заболевания и клинических показателей: пол, возраст на момент установления диагноза, форма, степень тяжести и длительность заболевания с момента диагностики.

Методы исследования включали проведение клинических, биохимических, молекулярно-генетических и статистических методов.

Клинические методы включали сбор жалоб, анамнеза и объективный осмотр.

Для оценки состояния гемостаза производили подсчет количества тромбоцитов по показателям гемограммы в периферической крови методом фазово-контрастной микроскопии по Фонио, изучение сосудисто-тромбоцитарного звена (определение агрегации тромбоцитов индуцированной АДФ (1,0 и 0,5 ммоль), фактора Виллебранда (ФВ), ретракцию кровяного сгустка в пробирке по В.П. Балуда и соавт. (1980), коагуляционного звена системы гемостаза (определение активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ), протромбинового индекса (ПТИ), тромбинового времени (ТВ), растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК), количества фибриногена) и антикоагулянтной системы крови с помощью определения активности антитромбина III (АТ III) и XII –а зависимого фибринолиза по Г.Ф. Еремину и А.Г. Архипову (1982), с использованием реактивов НПО «РЕНАМ» (Россия).

Концентрация циркулирующих иммунных комплексов исследовались на основе метода их преципитации растворами полиэтиленгликоля - 6000 (ПЭГ-6000) с конечной концентрацией 4% и 6%.

В качестве материала для молекулярно-генетического исследования полиморфных вариантов генов TNF- α (rs1800629), IL-1 β (rs1143627), IL-6 (rs1800795), VEGFA (rs2010963), AGTR1 (rs5186) и END1 (rs5370) использовалась венозная кровь пациентов ИМТВ и ИТП, а также условно-здоровых лиц. Генотипирование производилось с помощью ПЦР с последующим анализом полиморфизма длин рестрикционных фрагментов

(ПДРФ) продуктов ПЦР. Геномную ДНК выделяли из ядер лейкоцитов венозной крови, стабилизированной 0,5 М ЭДТА, после чего измеряли ее концентрацию на спектрофотометре, проводили амплификацию. Специфичность и количество амплифицированных фрагментов проверяли методом электрофореза в агарозном геле. Продукты амплификации и рестрикции разделяли в 6,0-10,0% в 2,0-3,0% агарозном или полиакриламидном гелях. Для детекции продуктов амплификации в агарозном геле использовали камеры для горизонтального электрофореза «Хеликон» («ДНК-Технология»).

Последовательность нуклеотидов при детекции полиморфизмов генов TNF- α (rs1800629), IL-1 β (rs1143627), IL-6 (rs1800795), VEGFA (rs2010963), AGTR1 (rs5186) и END1 (rs5370) определена с помощью программы «Олиго v. 6. 31» (Molecular Biology Insights Inc., США) и синтезированы НПФ «Литех» (Россия) (смотрите Таблицу 1).

Таблица 1

Список олигонуклеотидных праймеров использованных для ПЦР

| Гены | Полиморфизм | Структура олигопраймеров |
|---------------|-------------|--|
| TNF- α | rs1800629 | F: 5' AATAGGTTTTGAGGGCCATG-3' R: 5' ATCTGGAGGAAGCGGTAGTG-3' |
| IL-1 β | rs1143634 | F: 5' CTCAGGTOTCCTCGAAGAAATCAAA-3' R: 5' GCT TTT TTG CTG TGA GTC CCG-3' |
| IL-6 | rs1800795 | F: GACCTAAGCTGCACTTTTC R: GGTTGAGACTCTAATATTGAGAC |
| VEGFA | rs2010963 | F: GCCAATTCAAGCCCAGTCSTTTCTGTGTTTA TTCCCATCTCTCCCAAAT R: CTGATACACTGTCTGCAAACATATC |
| AGTR1 | rs5186 | F: 5'-CACTTCACTACCAAATGAGC R: A TTAGCTACTTTTCAGAATTG-3' |
| END1 | rs5370 | F: 5' TGCGGTGTAGGGAACGGCCTGAG 3 R: 5' CTTCTGGAGGTCACGGCTCAAGG 3' |

Статистическая обработка полученных результатов проводилась на персональном компьютере с помощью программ «OpenEpi 2009, Version 2.3».

Для определения различий в частоте встречаемости генотипов между исследуемыми группами использовался точный критерий Фишера. Соответствие распределения генотипов в обследованных группах каноническому распределению Харди-Вайнберга оценивали с помощью критерия « χ^2 ». Различия между группами статистически значимыми принимались при значении $p < 0,05$.

В третьей главе диссертации «**Клинико-биохимические особенности иммунного микротромбоваскулита и иммунной тромбоцитопении**» представлены результаты изучения клинических и биохимических проявлений ИМТВ и ИТП. Установлено, что большая частота заболеваемости как ИМТВ, так и ИТП приходится на молодую возрастную категорию лиц (50,5% и 54,4%,

соответственно), а наименьшая на группу старческого возраста (2,0% и 1,5%, соответственно). При этом, выявлена зависимость частоты обращаемости больных ИМТВ и ИТП от сезонности года, в частности, наибольшая ее регистрация наблюдалась в зимние (26,7% и 45,2%, соответственно) и весенние (37,0% и 34,1%, соответственно), а наименьшая в летние месяцы (13,3% и 14,1%, соответственно). Вместе с этим, определено, что важная роль в развитии ИМТВ и ИТП принадлежит бактериальным и вирусным инфекциям, а рецидивы заболевания ассоциируются с обострением у больных очагов хронической инфекции (при ИМТВ в 81,9%; при ИТП в 74,8% случаях), являющимися источниками поддержания иммунокомплексного процесса, что полностью совпадает с патогенетическим ходом развития заболевания и не противоречат литературным данным (Min Yan, Zhan Wang, Na Niu, Jianxia Zhao, and Jian Peng, 2015).

Частота встречаемости основных клинических синдромов составила при ИМТВ: кожный синдром – 100%, суставной синдром – 84,8%, абдоминальный – 18,1%, почечный – 4,8%; при ИТП: кожный синдром – 100%, кровотечения – 97,8%. Также необходимо отметить, что наиболее частым клиническим проявлением ИМТВ и ИТП являлся кожный геморрагический синдром в виде петехиальной геморрагической сыпи (100% и 100%, соответственно), что создает определенные трудности в их диагностике и дифференциальной диагностике как между собой, так с другими клинически схожими заболеваниями. Доказательством этому является, то, что 39,0% пациентов с ИМТВ и 28,0% с ИТП изначально получали лечение по поводу других заболеваний. В свою очередь, это привело к поздней обращаемости этих больных в более тяжелом состоянии с осложненным течением.

При клиническом обследовании больных ИМТВ и ИТП в большинстве случаев выявлялась средняя степень тяжести заболеваний. Так, I степень тяжести ИМТВ установлена у 22,9% (24) больных, то II степень и III степень тяжести у 53,3% (56) и 23,8% (25), соответственно.

У больных ИТП степень тяжести оценивалась по выраженности геморрагического синдрома (ВОЗ, 2012): I степень тяжести заболевания установлена у 17,0% (23), II степень тяжести у 56,3% (76) и III степень у 26,7% (36) больных.

Наряду с этими фактами определены клинические предикторы неблагоприятного прогноза течения ИМТВ (тяжесть проявлений абдоминального и нефротического синдромов, кровотечения из ЖКТ, рецидивы более 2 раз в год) и ИТП (изнуряющие кровотечения, рецидивы более 2 раз в год).

Сравнительный анализ результатов исследования системы гемостаза при ИМТВ и ИТП позволил установить наличие особенностей нарушений в этой системе отличающиеся разнонаправленностью значений ее показателей в зависимости от заболевания. Так, в сравнение с контрольной группой, у больных ИМТВ выявлена гиперкоагуляция, выражавшаяся в укорочении ВСК в 1,6 раз ($196,4 \pm 9,4$ сек против $311,81 \pm 2,18$ сек, $p < 0,05$), активации

агрегации тромбоцитов в 1,06 раз (при АДФ 1,0 ммоль 60,3±2,0 сек против 56,79±0,97 сек, $p>0,05$), увеличении РФМК в 1,75 раз (6,76±0,2 г/л против 3,85±0,05 г/л, $p<0,05$) и ФВ в 1,14 раза (114,9±2,8% против 100,4±1,4%, $p<0,05$) (смотрите Таблицу 2).

Таблица 2

Показатели системы гемостаза у пациентов ИМТВ и контрольной группе, (M±m)

| Показатели | Контрольная группа, (n=73) | Основная группа, (n=105) | t | P |
|-------------------------------|----------------------------|--------------------------|-------|--------|
| ВСК, сек | 311,81±2,18 | 196,4±9,4 | 11,96 | <0,001 |
| ДК, сек | 96,71±1,75 | 99,2±1,4 | 1,11 | >0,05 |
| АТ с АДФ 1ммоль, % | 56,79±0,97 | 60,3±2,0 | 1,58 | >0,05 |
| АТ с АДФ 0,5 ммоль, % | 28,95±0,53 | 28,9±0,87 | 0,05 | >0,05 |
| АЧТВ, сек | 30,68±0,28 | 31,3±0,4 | 1,27 | >0,05 |
| ПТИ, % | 90,93±1,15 | 99,5±0,86 | 5,97 | <0,001 |
| ТВ, мин | 8,86±0,13 | 12,8±0,13 | 21,43 | <0,001 |
| Фибриноген, г/л | 3,2±0,05 | 4,05±0,076 | 9,34 | <0,001 |
| ХПа-зависимый фибринолиз, мин | 6,42±0,13 | 8,9±0,25 | 8,80 | <0,001 |
| АТ III, % | 106±0,97 | 95,7±0,7 | 8,61 | <0,001 |
| РФМК, г/л | 3,85±0,05 | 6,76±0,2 | 14,12 | <0,001 |
| ФВ, % | 100,4±1,4 | 114,9±2,8 | 4,63 | <0,001 |

Тогда как в группе больных ИТП, нарушения характеризовались снижением свертывающей активности крови, что подтверждалось удлинением ДК в 1,8 раз (179,0±9,7 сек. против 96,97±1,59 сек., $p<0,05$), снижением количества тромбоцитов в 2 раза ($100,1\pm 7,34\times 10^9/\text{л}$ против $220,3\pm 2,84\times 10^9/\text{л}$, $p<0,05$), агрегации тромбоцитов в 2,1 (при АДФ 1 ммоль 26,6±2,1% против 57,13±0,96%, $p<0,05$) и 2,25 раз (при АДФ 0,5 ммоль 12,9±1,08% против 29,07±0,52%, $p<0,05$) и ретракции кровяного сгустка в 1,7 раз (0,17±0,01 против 0,3±0,009, $p<0,05$) (смотрите Таблицу 3).

Кроме того, в отличие от контрольной группы, в основной группе больных ИМТВ наблюдались увеличение концентрации крупных ЦИК более чем в 2 раза (25,4±1,9 у.е. против 11,5±0,3 у.е., $p<0,05$) и мелких ЦИК в 1,6 раз (47,3±2,5 у.е. против 28,8±0,6 у.е., $p<0,05$).

Таблица 3

Показатели системы гемостаза у пациентов ИТП и в контрольной группе, (M±m)

| Показатели | Контрольная группа, (n=81) | Основная группа, (n=135) | t | P |
|--------------------------------|-----------------------------------|---------------------------------|----------|----------|
| ВСК, сек | 310,33±2,05 | 320,4±1,9 | 14,34 | <0,001 |
| ДК, сек | 96,97±1,59 | 179,0±9,7 | 8,35 | <0,001 |
| Тромбоциты, 10 ⁹ /л | 220,3±2,84 | 100,1±7,34 | 15,27 | <0,001 |
| АТ с АДФ 1ммоль, % | 57,13±0,96 | 26,6±2,1 | 13,22 | <0,001 |
| АТ с АДФ 0,5 ммоль, % | 29,07±0,52 | 12,9±1,08 | 13,49 | <0,001 |
| АЧТВ, сек | 30,5±0,28 | 30,4±0,3 | 0,24 | >0,05 |
| ПТИ, % | 90,83±1,07 | 93,1±0,82 | 1,68 | >0,05 |
| ТВ, сек | 8,9±0,12 | 10,06±0,15 | 6,04 | <0,001 |
| Фибриноген, г/л | 4,1±0,53 | 3,78±0,32 | 0,52 | >0,05 |
| ХIIa-зависимый фибринолиз, мин | 6,44±0,15 | 8,1±0,2 | 6,64 | <0,001 |
| Ретракция | 0,3±0,009 | 0,17±0,01 | 9,66 | <0,001 |

В то же время, в основной группе больных ИТП концентрация крупных ЦИК была повышена в 2 раза (25,4±1,9 у.е. против 11,6±0,3 у.е., p<0,05), а мелких в 1,7 раз (47,3±2,5 у.е. против 29,1±0,5 у.е., p<0,05). В свою очередь, повышенный уровень ЦИК является важным прогностическим маркером стадии обострения и тяжести течения ИМТВ и ИТП.

Установленные различия между выраженностью клинических и биохимических нарушений с тяжестью течения ИМТВ и ИТП позволили установить предикторы, определяющие прогноз течения этих заболеваний. В свою очередь, полученные нами данные, в результате проведенных клинико-биохимических исследований, доказывают их важность и необходимость в диагностике и прогнозировании течения ИМТВ и ИТП.

В четвертой главе диссертации «**Особенности аллельных полиморфизмов генов при иммунном микротромбоваскулите**» представлены результаты изучения особенностей генетических полиморфизмов у пациентов ИМТВ и условно-здоровых лиц.

В нашем исследовании у пациентов ИМТВ (n=75) по сравнению с группой контроля (n=73) были выявлены особенности распределения частот минорных аллелей и неблагоприятных генотипов полиморфных вариантов генов TNF-α (rs1800629), IL-1β (rs1143627), IL-6 (rs1800795), VEGFA (rs2010963), AGTR1 (rs5186) и END1 (rs5370). Распределение наблюдаемых (Hobs) и ожидаемых (Hexp) частот генотипов изученных генов соответствовало равновесию Харди-Вайнберга (p>0.05).

В основной группе больных ИМТВ чаще встречались минорный аллель А (14.0% против 7.5%) и неблагоприятный гетерозиготный генотип G/A

(28.0% против 15.1%) гена TNF- α (rs1800629), при этом значимый характер различия прослеживался только у пациентов находившихся в стадии разгара (смотрите Таблицу 4).

Таблица 4

Частота распределения аллелей и генотипов полиморфизма гена TNF- α (rs1800629) в контрольной группе и у пациентов ИМТВ

| Группа | n | Частота аллелей | | | | Частота генотипов | | | | | |
|--------------------------|----|-----------------|------|----|------|-------------------|------|-----|------|-----|---|
| | | G | | A | | G/G | | G/A | | A/A | |
| | | n | % | n | % | n | % | n | % | n | % |
| Основная группа, из них: | 75 | 129 | 86,0 | 21 | 14,0 | 54 | 72,0 | 21 | 28,0 | 0 | 0 |
| «А» - подгруппа | 41 | 68 | 82,9 | 14 | 17,1 | 27 | 65,9 | 14 | 34,1 | 0 | 0 |
| «Б» - подгруппа | 34 | 61 | 89,7 | 7 | 10,3 | 27 | 79,4 | 7 | 20,6 | 0 | 0 |
| Контрольная группа | 73 | 135 | 92,5 | 11 | 7,5 | 62 | 84,9 | 11 | 15,1 | 0 | 0 |

В «А» подгруппе пациентов ИМТВ доли носительства аллеля А и гетерозиготного генотипа G/A статистически значимо превышали их доли в контрольной группе в 2,53 ($\chi^2=4.9$; $p=0.03$; OR=2.53; 95% CI: 1.089-5.86) и 2,9 раз ($\chi^2=5.9$; $p=0.02$; OR=2.9; 95% CI: 1.18-7.26), соответственно. Вместе с тем, анализ результатов в «Б» подгруппе пациентов ИМТВ показал, что доли носительства аллеля А и гетерозиготного генотипа G/A статистически не значимо превышали их доли в контрольной группе в 1,4 ($\chi^2<3.85$; $p>0.05$; OR=1.4; 95%CI: 0.52- 3.81) и 1,5 раза ($\chi^2<3.85$; $p>0.05$; OR=1.5; 95%CI: 0.51-4.18), соответственно (смотрите Рисунок 1).

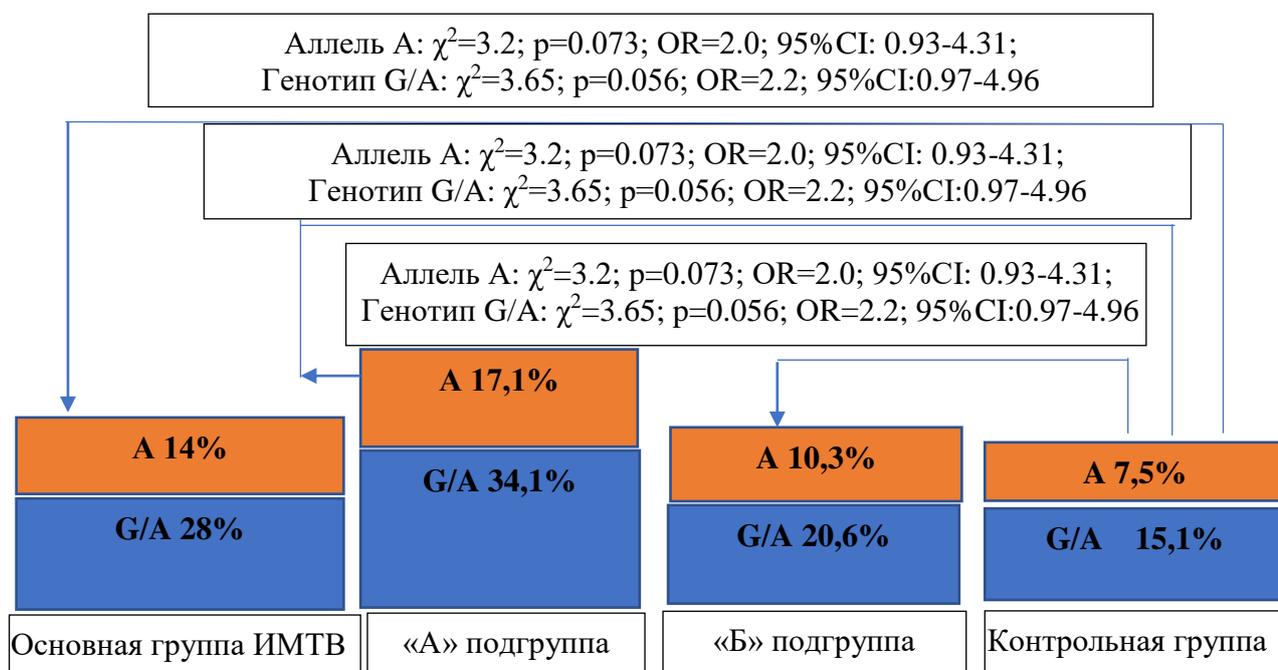


Рис. 1. Частота распределения неблагоприятного аллеля А и генотипа G/A полиморфизма гена TNF- α (rs1800629) в изученных группах

Анализ распределения частот аллелей и генотипов полиморфизмов генов IL1 β (rs1143627) и IL6 (rs1800795) между основной группой больных ИМТВ и контролем показал отсутствие значимых различий в распределении минорных аллелей (для IL1 β (rs1143627) С аллель: 16.0% против 15.7%; $\chi^2=0.0034$; $p=0.95$ и для IL6 (rs1800795) G аллель: 14.7% против 19.9%; $\chi^2=1.4$; $p=0.2$, соответственно) и генотипов (для IL1 β (rs1143627) T/C генотип: 32.0% против 28.8%; $\chi^2=1.17$; $p=0.56$ и для IL6 (rs1800795) C/G генотип: 29.3% против 37.0%; $\chi^2=2.14$; $p=0.34$, соответственно), что свидетельствует об отсутствии их ассоциации с риском развития ИМТВ.

При изучении особенностей полиморфизма гена VEGFA (rs2010963) установлено наличие значимых различий в долях частот минорного аллеля G и генотипов C/G и G/G у пациентов с ИМТВ, по отношению к таковым в контрольной группе. В частности, если в основной группе больных частота аллеля G составила 31,3% ($\chi^2=13.14$; $p=0.0003$), то в группе контроля этот показатель был равен 13,7%. Частоты генотипов C/G и G/G превышали их значения в контроле более чем 2 раза (49.3% против 21.9% и 6.7% против 2.7%; $\chi^2=15.08$; $p=0.0005$) (смотрите Таблицу 5).

Таблица 5

Частота распределение аллелей и генотипов полиморфизма гена VEGFA (rs2010963) в контрольной группе и у пациентов ИМТВ

| Группа | n | Частота аллелей | | | | Частота генотипов | | | | | |
|--------------------------|----|-----------------|------|----|------|-------------------|------|-----|------|-----|-----|
| | | C | | G | | C/C | | C/G | | G/G | |
| | | n | % | n | % | n | % | n | % | n | % |
| Основная группа, из них: | 75 | 103 | 68,7 | 47 | 31,3 | 33 | 44,0 | 37 | 49,3 | 5 | 6,7 |
| «А» - подгруппа | 41 | 56 | 68,3 | 26 | 31,7 | 17 | 41,4 | 22 | 53,7 | 2 | 4,9 |
| «Б» - подгруппа | 34 | 47 | 69,1 | 21 | 30,9 | 16 | 47,1 | 15 | 44,1 | 3 | 8,8 |
| Контрольная группа | 73 | 126 | 86,3 | 20 | 13,7 | 55 | 75,3 | 16 | 21,9 | 2 | 2,7 |

Примерно такие же особенности наблюдались в «А» и «Б» подгруппах больных ИМТВ. В частности, в «А» подгруппе в сравнение с контрольной группой доля минорного аллеля G превышала в 2,9 раз (31,3% против 13,7%; $\chi^2=10.57$; $p=0.00115$; OR=2.925; 95%CI: 1.508-5.673). В «Б» подгруппе частота неблагоприятного аллеля G выше таковых в контроле в 2,8 раз (30,9% против 13,7%; $\chi^2=8.845$; $p=0.003$; OR=2.815; 95%CI: 1.401- 5.657). Выявленные факты свидетельствует об ассоциации аллеля G с повышенным риском развития ИМТВ.

Вместе с указанными особенностями, соответствующие изменения установлены и в отношении распределения частот генотипов полиморфизма гена VEGFA (rs2010963). Необходимо отметить, что в обеих подгруппах больных ИМТВ, выявлялось носительство всех трех вариантов генотипов, включая редко встречающийся мутантный генотип G/G. В «А» и «Б» подгруппах больных по отношению к контрольной группе отмечено увеличение частоты генотипа C/G в 4,45 и 3,22 раза (для «А» подгруппы: $\chi^2=12.8$;

$p=0.0003$; $OR=4.45$; $95\%CI: 1.91-10.3$ и для «Б» подгруппы: $\chi^2=6.82$; $p=0.009$; $OR=3.22$; $95\%CI: 1.31-7.91$) и мутантного G/G генотипа в 3,23 и 5,16 раз (для «А» подгруппы: $\chi^2=1.41$; $p=0.23$; $OR=3.24$; $95\%CI: 0.42-24.73$ и «Б» подгруппы: $\chi^2=3.5$; $p=0.061$; $OR=5.16$; $95\%CI: 0.79-33.58$).

Данные факты указывает на то, что минорный аллель G и генотипы C/G и G/G полиморфного варианта гена VEGFA (rs2010963) повышают риск развития ИМТВ. Это обстоятельство возможно, связано с потерей протективного эффекта мажорного аллеля и генотипа C/C, у больных с минорными аллелем и генотипами, вследствие чего запускаются воспалительные процессы, повреждающие эндотелий микрососудов при ИМТВ.

Изучение особенностей полиморфного варианта гена AGTR1 (rs 5186) показало отсутствие значимого различия в распределении частот аллелей и генотипов. Так, в основной группе больных ИМТВ и в контроле доля аллеля C составила 40,7% и 42,3% ($\chi^2=0.099$; $p=0.75$), соответственно, а генотипов A/C и C/C – 41,3% и 49,3%, а также – 20,0% и 17,8% ($\chi^2=0.96$; $p=0.62$), соответственно. Аналогичная картина отмечена и в отношении полиморфизма гена END1 (rs5370). Так, если у пациентов ИМТВ частота минорного аллеля Asn составила 30,7% ($\chi^2=1.7$; $p=0.2$), то в контрольной группе она равнялась 24,0%. В соответствии с этим, в отношении частот неблагоприятных генотипов Lys/Asn и Asn/Asn среди больных ИМТВ по сравнению с таковыми у условно-здоровых лиц, также наблюдались различия, но при этом они имели не достоверный характер (48,0% против 39,7% и 6,7% против 4,1%; $\chi^2=1.9$; $p=0.39$). В связи с чем, очевидно, что полиморфные варианты генов AGTR1 (rs 5186) и END1 (rs5370) не связаны с риском формирования ИМТВ.

Для выявления наличия или отсутствия связи сочетанного носительства неблагоприятных генотипов изученных полиморфных вариантов генов с риском развития ИМТВ нами проведено изучение их различных комбинаций. В результате, в основной группе больных ИМТВ, в сравнение с контрольной группой в носительстве возможных комбинации неблагоприятных генотипов значимых различий не установлено.

Таким образом, результаты сравнительного анализа генетической характеристики носительства минорных аллелей и генотипов полиморфных вариантов генов TNF- α (rs1800629) и VEGFA (rs2010963) у больных с ИМТВ и условно-здоровых лиц убедительно показывают их вовлеченность в механизмы формирования ИМТВ.

В пятой главе диссертации «**Особенности аллельных полиморфизмов генов провоспалительных цитокинов при иммунной тромбоцитопении**» приведены результаты особенностей генов провоспалительных цитокинов TNF- α (rs1800629), IL-1 β (rs1143627), IL-6 (rs1800795) у пациентов ИТП ($n=89$) и условно-здоровых лиц ($n=81$). Распределение наблюдаемых (Hobs) и ожидаемых (Hexp) частот генотипов изученных генов соответствовало равновесию Харди-Вайнберга ($p>0.05$).

Проведенное исследование по изучению особенностей распределения частот аллелей и генотипов полиморфного варианта гена TNF- α (rs1800629) в основной группе больных ИТП по отношению к контрольной группе, показало более чем в 2 раза достоверно высокую встречаемость его минорного аллеля А (16.3% против 7.4%; $\chi^2=6.31$; $p=0.012$; OR=2.43; 95%CI:1.2-4.95) и неблагоприятного гетерозиготного генотипа G/A (30.3% против 14.8%; $\chi^2=6.0$; $p=0.014$; OR=2.55; 95%CI:1.2-5.45) (смотрите Таблицу 6).

Таблица 6

Частота распределения аллелей и генотипов полиморфизма гена TNF- α (rs1800629) в контрольной группе и у пациентов ИТП

| Группа | n | Частота аллелей | | | | Частота генотипов | | | | | |
|--------------------------|----|-----------------|------|----|------|-------------------|------|-----|------|-----|-----|
| | | G | | A | | G/G | | G/A | | A/A | |
| | | n | % | n | % | n | % | n | % | n | % |
| Основная группа, из них: | 89 | 149 | 83,7 | 29 | 16,3 | 61 | 68,5 | 27 | 30,3 | 1 | 1,1 |
| «А» - подгруппа | 49 | 82 | 83,7 | 16 | 16,3 | 34 | 69,4 | 14 | 28,6 | 1 | 2,0 |
| «Б» - подгруппа | 40 | 67 | 83,8 | 13 | 16,2 | 27 | 67,5 | 13 | 32,5 | 0 | 0 |
| Контрольная группа | 81 | 150 | 92,3 | 12 | 7,4 | 69 | 85,2 | 12 | 14,8 | 0 | 0 |

Также, необходимо отметить, что в единичном случае выявлялось наличие мутантного генотипа А/А в группе больных ИТП за счет регистрации его частоты в «А» подгруппе. Повышение частот неблагоприятных аллеля А и генотипа G/A регистрировались и в обеих подгруппах «А» и «Б» больных ИТП (смотрите Рисунок 2).

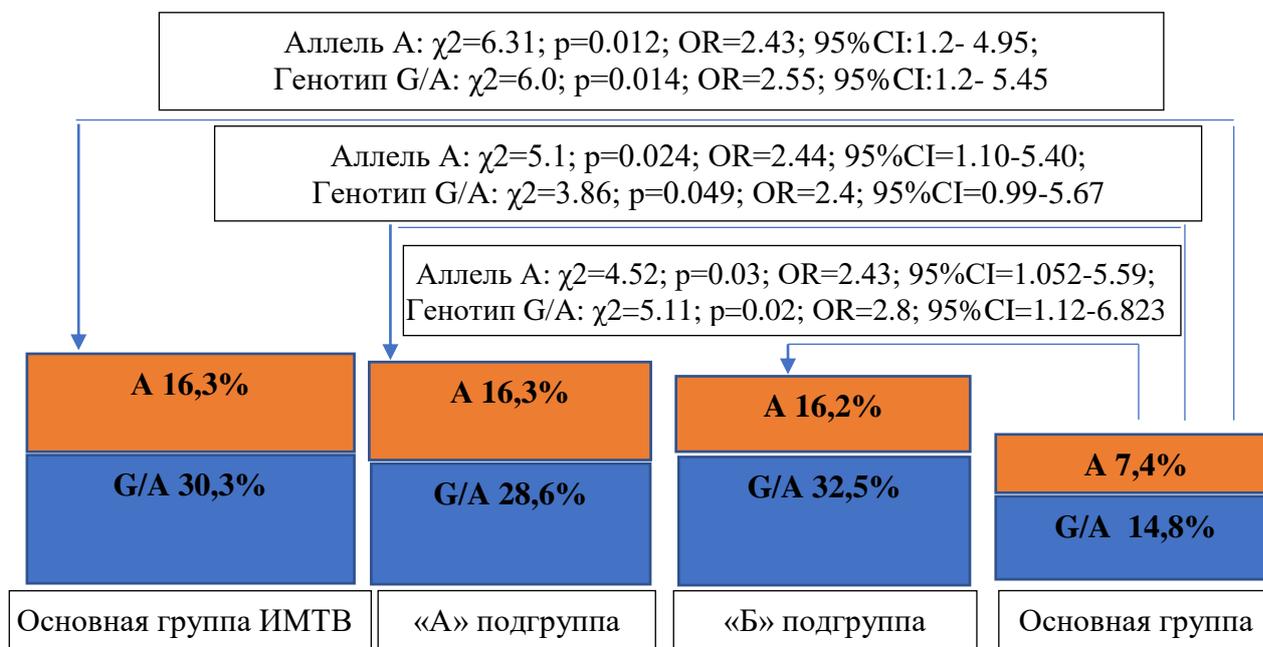


Рисунок 2. Частота распределения неблагоприятного аллеля А и генотипа G/A полиморфизма гена TNF- α (rs1800629) в изученных группах

Так, если доля аллеля А и генотипа G/A у пациентов в стадии разгара составили 16.3% ($\chi^2=5.1$; $p=0.024$; OR=2.44; 95%CI:1.10-5.40) и 28.6% ($\chi^2=3.86$; $p=0.049$; OR=2.4; 95%CI=0.99-5.67), то в подгруппе пациентов находившихся в стадии ремиссии значения этих показателей равнялись 16.2% ($\chi^2=4.52$; $p=0.03$; OR=2.43; 95%CI: 1.052-5.59) и 32.5% ($\chi^2=5.11$; $p=0.02$; OR=2.8; 95%CI: 1.12-6.823).

Достоверное повышение частот минорного аллеля А и генотипа G/A гена TNF- α (rs1800629) в основной группе больных позволяют утверждать, что их носители являются лицами повышенного риска развития ИТП.

Наряду с полиморфизмом гена TNF- α (rs1800629) изучены особенности частоты встречаемости полиморфных вариантов генов провоспалительных цитокинов IL1 β (rs1143627) и IL6 (rs1800795). Результаты исследования выявили отсутствие значимых различий в распределении минорных аллелей и генотипов полиморфизмов генов IL1 β (rs1143627) и IL6 (rs1800795) между условно-здоровыми лицами и группой больных ИТП. В частности, в основной группе больных ИТП для полиморфизма гена IL1 β (rs1143627) частоты аллеля С, генотипов T/C и C/C составили 24.2% ($\chi^2=2.91$; $p=0.09$; OR=1.6; 95%CI: 0.9308-2.7), 37.1% ($\chi^2=1.45$; $p=0.23$; OR= 0.7; 95%CI: 0.3525-1.285) и 5.6% ($\chi^2=1.1$; $p=0.3$; OR=0.43; 95%CI: 0.08021-2.255), а для полиморфизма гена IL6 (rs1800795) минорный аллель G и генотип C/G составили 18.0% ($\chi^2<3.85$; $p>0.05$; OR=0.9; 95%CI: 0.50-1.47) и 35.9% ($\chi^2<3.85$; $p>0.05$; OR=1.2; 95%CI: 0.63-2.17). Подобные изменения наблюдались также в «А» и «Б» подгруппах больных ИТП. Следовательно, на основании полученных данных мы не можем утверждать, что у носителей минорных аллелей и генотипов полиморфизмов генов провоспалительных цитокинов IL1 β (rs1143627) и IL6 (rs1800795) имеется повышенный риск развития ИТП, т.е. эти полиморфизмы генов не ассоциируются с формированием ИТП.

Оценка прогностической ценности изученных полиморфизмов генов при ИТП позволила выделить значимость гена TNF- α (rs1800629) в повышении риска развития заболевания. Изучение феномена совместного действия генов TNF- α (rs1800629), IL1 β (rs1143627) и IL6 (rs1800795) в возможных комбинациях не выявило статистически значимых различий между изученными группами, указывающих на вероятную их ассоциацию с повышением риска развития ИТП.

Таким образом, результаты сравнительного анализа генетических особенностей распространенности полиморфных вариантов генов TNF- α (rs1800629), IL1 β (rs1143627) и IL6 (rs1800795) в группе больных ИТП и контроля доказывают важную роль гена TNF- α (rs1800629) в патогенезе ИТП.

В шестой главе диссертации **«Ассоциация полиморфизмов генов с тяжестью течения иммунного микротромбоваскулита и иммунной тромбоцитопении, и их прогностическое значение»** рассмотрены результаты изучения взаимосвязи между носительством неблагоприятных генотипов полиморфных вариантов генов и тяжестью клинических проявлений ИМТВ и ИТП с определением их прогностического значения.

В результате изучения корреляционных связей между носительством неблагоприятных генотипов полиморфизма гена VEGFA (rs2010963) и

степенью тяжести ИМТВ не выявлено наличие статистически значимых различий в отношении гетерозиготного генотипа C/G ($\chi^2 < 3.8$; $P > 0.05$). Однако в отношении мутантного генотипа G/G ($\chi^2 > 3.8$; $P < 0.05$) установлена значимая связь с риском развития тяжелого течения ИМТВ. Следовательно, генотип G/G полиморфного варианта гена VEGFA (rs2010963) является прогностическим маркером тяжести течения ИМТВ.

Изучение коррелятивных связей между носительством неблагоприятных генотипов полиморфизма гена TNF- α (rs1800629) и степенью тяжести ИТП позволило установить отсутствие достоверных различий, а значит данный полиморфный вариант не является прогностическим маркером развития тяжелого течения ИТП.

Таким образом, наряду со стандартными клинико-лабораторными исследованиями определена важность проведения молекулярно-генетических исследований с целью выявления генетических маркеров, повышающих риск развития ИМТВ (TNF- α (rs1800629) и VEGFA (rs2010963)) и ИТП (TNF- α (rs1800629)). Кроме того, при обследовании пациентов с ИМТВ необходимо учитывать наличие носительства мутантного генотипа G/G полиморфного варианта гена VEGFA (rs2010963), что позволяет прогнозировать тяжелое течение заболевания и определять группы высокого риска больных на начальном этапе диагностики заболевания. В свою очередь, это способствует правильному выбору тактики ведения больных, предупреждению развития тяжелых осложнений заболеваний, и тем самым повысить качество жизни пациентов с ИМТВ и ИТП.

Оценка клинико-биохимических проявлений и молекулярно-генетических особенностей ИМТВ и ИТП явилась патогенетической и фундаментальной основой для усовершенствования критериев прогноза развития и течения этих патологий.

Завершая обсуждение, следует отметить, что полученные результаты проведенного исследования позволяют расширить современные представления о механизмах формирования ИМТВ и ИТП. Анализ генетических полиморфизмов, в частности распределения частот их аллельных и генотипических вариантов позволяет проводить мониторинг среди населения для выявления предрасположенности к развитию ИМТВ и ИТП, развития неблагоприятного их течения, оценку прогноза, дифференциального подхода в ведении и профилактике осложнений у больных с этими заболеваниями.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам проведенных исследований по диссертации доктора наук (DSc) на тему: «**Клинико-биохимические и молекулярно-генетические особенности некоторых форм геморрагических диатезов**» сделаны следующие выводы:

1. Комплексное клинико-биохимическое обследование с применением молекулярно-генетических технологий показало, что в развитии иммунного

микротромбоваскулита и иммунной тромбоцитопении значительную роль играют генетические факторы.

2. У больных иммунным микротромбоваскулитом достоверно чаще определяются полиморфные аллель А и генотип G/A гена TNF- α (rs1800629), полиморфные аллель G и генотип C/G гена VEGFA (rs2010963), также у больных иммунной тромбоцитопенией достоверно чаще определяются полиморфные аллель А и генотип G/A гена TNF- α (rs1800629).

3. В зависимости от степени тяжести заболевания установлены различия в частоте встречаемости мутантного генотипа G/G гена VEGFA (rs2010963) при иммунном микротромбоваскулите, что позволяет клиницистам определить его в качестве генетического предиктора тяжелого течения заболевания.

4. Установлено отсутствие ассоциации генотипа G/A гена TNF- α (rs1800629) и генотипа C/G гена VEGFA (rs2010963) с высоким риском развития тяжелого течения иммунного микротромбоваскулита, генотипа G/A гена TNF- α (rs1800629) с высоким риском развития тяжелого течения иммунной тромбоцитопении.

5. Установлено отсутствие зависимости развития и тяжести течения иммунного микротромбоваскулита с полиморфизмами генов IL-1 β (rs1143627), IL-6 (rs1800795), AGTR1 (rs5186), END1 (rs5370), а также иммунной тромбоцитопении с полиморфизмами генов IL-1 β (rs1143627) и IL-6 (rs1800795).

6. В результате анализа клинико-биохимических и молекулярно-генетических данных усовершенствованы прогностические критерии развития и течения иммунного микротромбоваскулита и иммунной тромбоцитопении.

**SCIENTIFIC COUNCIL ON AWARDING THE SCIENTIFIC DEGREE
DSc.27.06.2017.Tib.30.02. AT THE TASHKENT MEDICAL ACADEMY**

**SCIENTIFIC RESEARCH INSTITUTE OF GEMATOLOGY AND
TRANFUSION OF BLOOD**

MATKARIMOVA DILFUZA SABUROVNA

**CLINICAL-BIOCHEMICAL AND MOLECULAR-GENETIC FEATURES
OF CERTAIN FORMS OF HEMORRHAGIC DIATHESIS**

14.00.29 – Hematology and transfusiology

**DISSERTATION ABSTRACT OF DOCTOR OF
SCIENCES (DSc) ON MEDICAL SCIENCES**

TASHKENT – 2019

The theme of the dissertation of the Doctor of Science (DSc) on medical sciences was registered by the Supreme Attestation Commission at the Cabinet of Ministers of the Republic of Uzbekistan under B2017.3.DSc/Tib220.

Doctoral dissertation was carried out at the Scientific research institute of Hematology and transfusion of blood.

The dissertation abstract was posted in three (uzbek, russian, english (resume)) languages on the website of the Scientific Council at (www.tma.uz) and on the website of «ZiyoNet» information-educational portal at (www.ziynet.uz).

Scientific adviser:

Karimov Khamid Yakubovich
Doctor of Medical Sciences, Professor

Official opponents:

Bahramov Saidjalol Makhmudovich
Doctor of Medical Sciences, Professor

Babadjanova Shoiragazamovna
Doctor of Medical Sciences, Professor

Gildieva Margarita Sabirovna
Doctor of Biological Sciences

Leading organization:

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education (FSBEI HE) "The First St. Petersburg State Medical University named after Academic I.P. Pavlov" Ministry of Health of the Russian Federation

The defense of the dissertation will be held on « ____ » _____ 2019, at ____ at of the Scientific Council DSc.27.06.2017.Tib.30.02 at the Tashkent Medical Academy (Address: 2 Farobi str., Almazar district, 100109 Tashkent. Tel./Fax (+99878) 150-78-25), e-mail: tta2005@mail.ru).

The dissertation can be looked through in the Information Resource Centre of the Tashkent Medical Academy (registered under No. _____). Address: 2 Farobi str., Almazar district, 100109 Tashkent. Tel./Fax (+99878) 150-78-25.

The dissertation abstract was distributed on « ____ » _____ 2019.

(Registry record No. ____ dated « ____ » _____ 2019)

A.G. Gadaev

Chairman of the Scientific Council for the Award of Scientific Degrees, Doctor of Medical Sciences, Professor

D.A. Nabieva

Scientific Secretary of the Scientific Council for the Award of Scientific Degrees, Doctor of Medical Sciences

A.L. Alyavi

Chairman of the Scientific Seminar at the Scientific Council for the Award of Scientific Degrees, Doctor of Medical Sciences, Professor, Academic

INTRODUCTION (abstract of DSc thesis)

The purpose of the study. The improvement of methods on prognostication of development and severity of the clinical process of immune microthrombovasculitis and immune thrombocytopenia on the base of researching the clinical-biochemical and genetic manifestations of diseases.

The object of the study was 240 unrelated patients who were monitored and treated at the Research Institute of Hematology and Blood Transfusion in the period from 2012 to 2018, of which 105 patients were persons with BMI and 135 with ITP. The control group included conditionally healthy unrelated individuals (n = 81).

The scientific novelty of the study is as follows:

predictors of the severe course of immune microthrombotic-vasculitis (severity of manifestations of abdominal and nephrotic syndromes, gastrointestinal bleeding, relapses more than 2 times a year) and immune thrombocytopenia (debilitating bleeding, relapses more than 2 times a year) are identified. In clinical remission of diseases, changes in the hemostatic system and an increase in the level of CEC can be considered as predictors of exacerbation and chronicity of the process;

complex molecular genetic analysis was performed and the characteristics of the frequency distribution of alleles and genotypes of polymorphic loci of the genes TNF- α (rs1800629), IL-1 β (rs1143627), IL-6 (rs1800795), VEGFA (rs2010963), AGTR1 (rs5186), END1 (rs5370) in patients with immune microthrombovasculitis, and the genes TNF- α (rs1800629), IL-1 β (rs1143627), IL-6 (rs1800795) in patients with immune thrombocytopenia;

the pathogenetic role and significance of the genotypic variants of the TNF- α (rs1800629) and VEGFA (rs2010963) genes in the formation of immune microthrombovasculitis, as well as the TNF- α gene (rs1800629) in the development of immune thrombocytopenia were established;

the pathogenetic role and significance of the genotypic variants of the TNF- α (rs1800629) and VEGFA (rs2010963) genes in the formation of immune microthrombovasculitis, as well as the TNF- α gene (rs1800629) in the development of immune thrombocytopenia were established;

depending on the severity of the course of the disease, significant differences were found in the frequency of occurrence of the mutant G/G genotype of the VEGFA gene (rs2010963) in patients with immune microthrombovasculitis. The significance of this genetic marker for preclinical prediction of the development of a severe course of the disease is shown;

prognostic criteria for the development and severe course of the immune microthrombovasculitis and immune thrombocytopenia based on the analysis of clinical, biochemical and genetic indicators are determined.

The implementation of research results. Based on the obtained scientific results on the study of clinical, biochemical and molecular genetic features in BMI and ITP:

The methodological recommendations “Improvement of the method for the detection of polymorphic variants of the TNF α (rs1800629) and VEGFA (rs2010963) cytokine genes” genes were approved (approved by the Ministry of Health No. 8n-d / 178 dated July 22, 2019). These recommendations allowed us to assess the role of carriage of unfavorable genotypes of polymorphisms of the TNF α (rs1800629) and VEGFA (rs2010963) genes in the development and severity of UTI and ITP;

“A method for differential prophylaxis of the severity of the course of the immune microtrombovasculitis based on molecular genetic research methods” (approved by the Ministry of Health No. 8n-d / 178 of July 22, 2019) These recommendations based on molecular genetic methods allow us to determine methods for the differential prevention of severe course of BMI;

“A step-by-step algorithm for the diagnosis of immune microthrombovasculitis and immune thrombocytopenia” (approved by the Ministry of Health No. 8n-d / 178 of July 22, 2019). These recommendations provide an opportunity to justify a phased diagnostic algorithm for BMI and ITP.

Scientific results on the clinical, biochemical, and molecular genetic characteristics of BMI and ITP have been introduced into medical practice, including the clinical practice of the Syrdarya branch of the Republican Scientific Center for Emergency Medical Aid and the Khorezm Regional Multidisciplinary Medical Center (conclusion of the Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan of November 8 2019 for No. 8n-r / 184). Putting the results into practice made it possible to improve the quality of predictive diagnosis, predicting the risk of development, the severity of the course of BMI and ITP, thereby improving the quality of life of patients with these diseases.

Structure and scope of the thesis. The dissertation consists of an introduction, 6 chapters, conclusion and a list of used literature. The volume of the dissertation is 180 pages.

ЭЪЛОН ҚИЛИНГАН ИШЛАР РЎЙХАТИ
СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ
LIST OF PUBLISHED WORKS

I қисм (I часть; I part)

1. Маткаримова Д.С. Патогенетические аспекты некоторых геморрагических диатезов у юношей допризывного возраста Южного Приаралья // Журнал теоретической и клинической медицины. - Ташкент, 2012. - №1. - С. 92-94 (14.00.00; №3).

2. Маткаримова Д.С. Характеристика особенностей гемостаза и гуморального иммунитета при иммунном микротромбоваскулите и тромбоцитопении у допризывников Приаралья // Журнал теоретической и клинической медицины. - Ташкент, 2012. - №3. - С. 26-28 (14.00.00; №3).

3. Маткаримова Д.С. Иммунный микротромбоваскулит // Журнал теоретической и клинической медицины. Спецвыпуск. - Ташкент, 2013. - С. 23-25 (14.00.00; №3).

4. Маткаримова Д.С. Роль генетического полиморфизма в патогенезе иммунного микротромбоваскулита и иммунной тромбоцитопении // Журнал теоретической и клинической медицины. - Ташкент, 2014. - №1. - С. 94-96 (14.00.00; №3).

5. Маткаримова Д.С. Региональные особенности течения некоторых геморрагических диатезов // Терапевтический вестник Узбекистана. - Ташкент, 2014. - №1. - С. 104-106 (14.00.00; №7).

6. Маткаримова Д.С. Современные представления об этиопатогенезе некоторых геморрагических диатезов // Терапевтический вестник Узбекистана. - Ташкент, 2014. - №1. - С. 121-124 (14.00.00; №7).

7. Маткаримова Д.С., Каримов Х.Я., Бобоев К.Т. Изучение роли полиморфизма rs 1800629 гена TNF- α в развитии иммунной тромбоцитопении // Медицинский журнал Узбекистана. – 2018. - №4. – С. 53-56 (14.00.00; №8).

8. Маткаримова Д.С. Новые направления в изучении механизмов формирования некоторых форм геморрагических диатезов // Тиббиёт ва спорт. – 2018. - №4. - С. 53-55 (14.00.00; №23).

9. Маткаримова Д.С., Шадыбекова О.Б. Механизмы нарушений системы гемостаза при некоторых формах геморрагических диатезов // Журнал теоретической и клинической медицины. – 2019. - №2. - С. 88-92 (14.00.00; №3).

10. Маткаримова Д.С. Триггерные факторы развития и клинические особенности течения иммунного микротромбоваскулита // Инфекция, иммунитет и фармакология. – 2019.- №2. - С. 109-115 (14.00.00; №15).

11. Matkarimova D.S., Karimov Kh.Ya., Boboev K.T. Evaluation of Polymorphism Gene AGTR1 (rs5186) in the Pathogenesis of Immune Microtrombovasculitis // American Journal of Medicine and Medical Sciences. –

2019. – Vol. 9, №11. – P. 439-442. DOI: 10.5923/j.ajmms.20190911.07 (14.00.00; №2).

12. Matkarimova D.S., Karimov Kh.Ya. Association of allelic polymorphism of tumor necrosis factor - alpha (rs1800629) factor with the development of immune microtrombovasculitis and immune trombocytopenia in adults // Glob. J. Med. Med. Sci. August. – 2019. - Vol. 7, №6. - P. 477-482 (Impact factor - 6.396).

13. Matkarimova D.S. Study of the role of the rs2010963 polymorphism of the VEGFA gene in the formation of predisposition to immune icrothrombovasculitis (Schönlein-Henoch purpura) in persons of Uzbek nationality // Glob. J. Med. Med. Sci. October. – 2019. - Vol. 7, №7. - P. 489-493 (Impact factor - 6.396).

14. Маткаримова Д.С., Каримов Х.Я., Бобоев К.Т. Изучение ассоциации генетического полиморфизма rs1800629 гена TNF α с развитием иммунного микротромбоваскулита у взрослых в Узбекистане. С.-Петербург // Вестник гематологии. – 2019. - Том XV, № 4. - С. 23-27 (14.00.00; №12).

II қисм (II часть; II part)

15. Маткаримова Д.С., Каримов Х.Я. Особенности формирования и течения иммунного микротромбоваскулита и иммунной тромбоцитопении в условиях Узбекистана. Монография. Ташкент, 2019, С.200.

16. Маткаримова Д.С. Роль гемостаза в поражении почек при иммунном микротромбоваскулите // Терапевтический вестник Узбекистана. Тезисы VI съезда терапевтов Узбекистана “Актуальные проблемы заболеваний внутренних органов”. Ташкент, 2013, №4, С.239-240.

17. Маткаримова Д.С., Сабирова Ш.Г. Тенденции, факторы развития и особенности течения некоторых форм геморрагических диатезов // Тезисы VII съезда терапевтов Узбекистана с международным участием «Современные технологии диагностики и лечения при заболеваниях внутренних органов» 24-25 ноября 2017 г., Ташкент. Терапевтический вестник Узбекистана, №3, 2017, С.171-172.

18. Маткаримова Д.С., Сабирова Ш.Г. Изучение особенностей заболеваемости и факторов развития иммунной тромбоцитопении и тромбоцитопатии // Ўзбекистон гематологлари ва трансфузиологларининг IV халқаро ўзбек-турк илмий амалий конгрессига илмий ишлар тўплами. 20-21 апрел, 2018, Тошкент, С.57-59.

19. Matkarimova D.S., Karimov Kh.Ya., Boboev K.T. The role of polymorphisms of cytokine genes in the formation of immune thrombocytopenia // «EurasiaScience» XVII Муждународная научно-практическая конференция, 31 октября 2018 г. - С. 34-35.

20. Маткаримова Д.С., Каримов Х.Я., Бобоев К.Т. Генетические полиморфизмы интерлейкинов при иммунной тромбоцитопении // Тезисы: Международного форума терапевтов «Инновационные методы диагностики

и лечения в практике терапевта» г. Ташкент, 13–14 ноября 2018 года., Терапевтический вестник Узбекистана. – 2018. - №3. - С. 134.

21. Matkarimova D.S., Karimov Kh.Ya. Gene polymorphisms of cytokines in the formation of some form's hemorrhagic diathesis // Scientific Discoveries. Proceedings of materials IV International scientific conference Czech Republic, Karlovy Vary-Russia, Moscow, January 30-31. – 2019. - P. 283-287.

22. Маткаримова Д.С., Каримов Х.Я., Бобоев К.Т. Ассоциация генов провоспалительных цитокинов с риском формирования иммунного микротромбоваскулита (пурпуры Шенлейн-Геноха) // Тезисы: Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Актуальные вопросы гематологии и трансфузиологии» Санкт-Петербург, 30–31 мая 2019 г., Вестник гематологии. – 2019. - Том XV, № 3. - С. 41-42.

23. Маткаримова Д.С., Каримов Х.Я., Бобоев К.Т. Полиморфизм гена ренин-ангиотензиновой системы у взрослых с иммунным микротромбоваскулитом в Узбекистане // Тезисы: Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Актуальные вопросы гематологии и трансфузиологии», Санкт-Петербург, 30–31 мая 2019 г., Вестник гематологии. – 2019. - Том XV, № 3. - С. 42.

Автореферат «Тошкент тиббиёт академияси ахборотномаси» журнали
таҳририятида таҳрирдан ўтказилди



MUHARRIRIYAT VA NASHRIYOT BO'LIMI

Разрешено к печати: 18 ноября 2019 года
Объем – 2,9 уч. изд. л. Тираж –100. Формат 60x84. 1/16. Гарнитура «Times New Roman»
Заказ № 0463 -2019. Отпечатано РИО ТМА
100109. Ул. Фароби 2, тел: (998 71)214-90-64, e-mail: rio-tma@mail.ru